

VERIFICATION OF A TRANSLATION

I, the below named translator, hereby declare that:

My name and post office address are as stated below:

That I am knowledgeable in the English language and in the language in which the below identified international application was filed, and that I believe the English translation of the international application No. PCT/JP98/03460 is a true and complete translation of the above identified international application as filed.

I hereby declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issued thereon.

Date

January 14, 2000

Full name of the translator

Yumi KUJIME

Signature of the translator

Yumi Kujime

Post Office Address

Kitahama TNK Building 7-1, Dosho-machi

1-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 541-0045,

Japan

1944. 12. 16

1944. 12. 16

PATENT COOPERATION TREATY

PCT
NOTIFICATION OF TRANSMITTAL
OF COPIES OF TRANSLATION
OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 72.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SAEGUSA, Eiji
 Kitahama TNK Building
 1-7-1, Doshomachi
 Chuo-ku
 Osaka-shi
 Osaka 541-0045
 JAPON

12.1.14

新三枝英二

Date of mailing (day/month/year) 04 January 2000 (04.01.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P98-30	
International application No. PCT/JP98/03460	International filing date (day/month/year) 04 August 1998 (04.08.98)
Applicant OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al	

1. Transmittal of the translation to the applicant.

The International Bureau transmits herewith a copy of the English translation made by the International Bureau of the international preliminary examination report established by the International Preliminary Examining Authority.

2. Transmittal of the copy of the translation to the elected Offices.

The International Bureau notifies the applicant that copies of that translation have been transmitted to the following elected Offices requiring such translation:

EP,AU,CA,CN,US

The following elected Offices, having waived the requirement for such a transmittal at this time, will receive copies of that translation from the International Bureau only upon their request:

JP,KR

3. Reminder regarding translation into (one of) the official language(s) of the elected Office(s).

The applicant is reminded that, where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report.

It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned (Rule 74.1). See Volume II of the PCT Applicant's Guide for further details.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer Diana Nissen Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 12 NOV 1999

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 P 98-30	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/03460	国際出願日 (日.月.年) 04.08.98	優先日 (日.月.年) 08.08.97
国際特許分類(IPC) Int. C1 ⁶ A61K35/74, 35/78, A23L1/30, C12N1/20// A61K31/35, C07D311/36		
出願人(氏名又は名称) 大塚製薬株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この文書と合わせて全部で _____

- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で _____ ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
II ☐ 優先権
III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
IV ☐ 発明の単一性の欠如
V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
VI ☐ ある種の引用文献
VII ☐ 国際出願の不備
VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 01.03.99	国際予備審査報告を作成した日 26.10.99	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 内田 淳子	4 P 8115
電話番号 03-3581-1101 内線 3492		

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

Ⅲ. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 13, 27

理由:

☒ この国際出願又は請求の範囲 13, 27 は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

人の身体の治療による処置方法である。

☐ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 _____ の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 _____ が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

☐ 請求の範囲 _____ について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条 (PCT35条(2)) に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1-12, 14-26, 28-32 有
請求の範囲 無

進歩性 (IS)

請求の範囲 1-12, 14-26, 28-32 有
請求の範囲 無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲 1-12, 14-26, 28-32 有
請求の範囲 無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

国際調査報告に記載されたいずれの文献にも、グイゼイン含有物と、グイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物とを含有する組成物については、記載も示唆もされていないので、請求項1-12, 14-26, 28-32記載の発明は、新規性、進歩性を有する。



11

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P98-30	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP98/03460	International filing date (day/month/year) 04 August 1998 (04.08.1998)	Priority date (day/month/year) 08 August 1997 (08.08.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 35/74, 35/78, A23L 1/30, C12N 1/20 // A61K 31/35, C07D 311/36		
Applicant OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.		

~~This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.~~

2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.

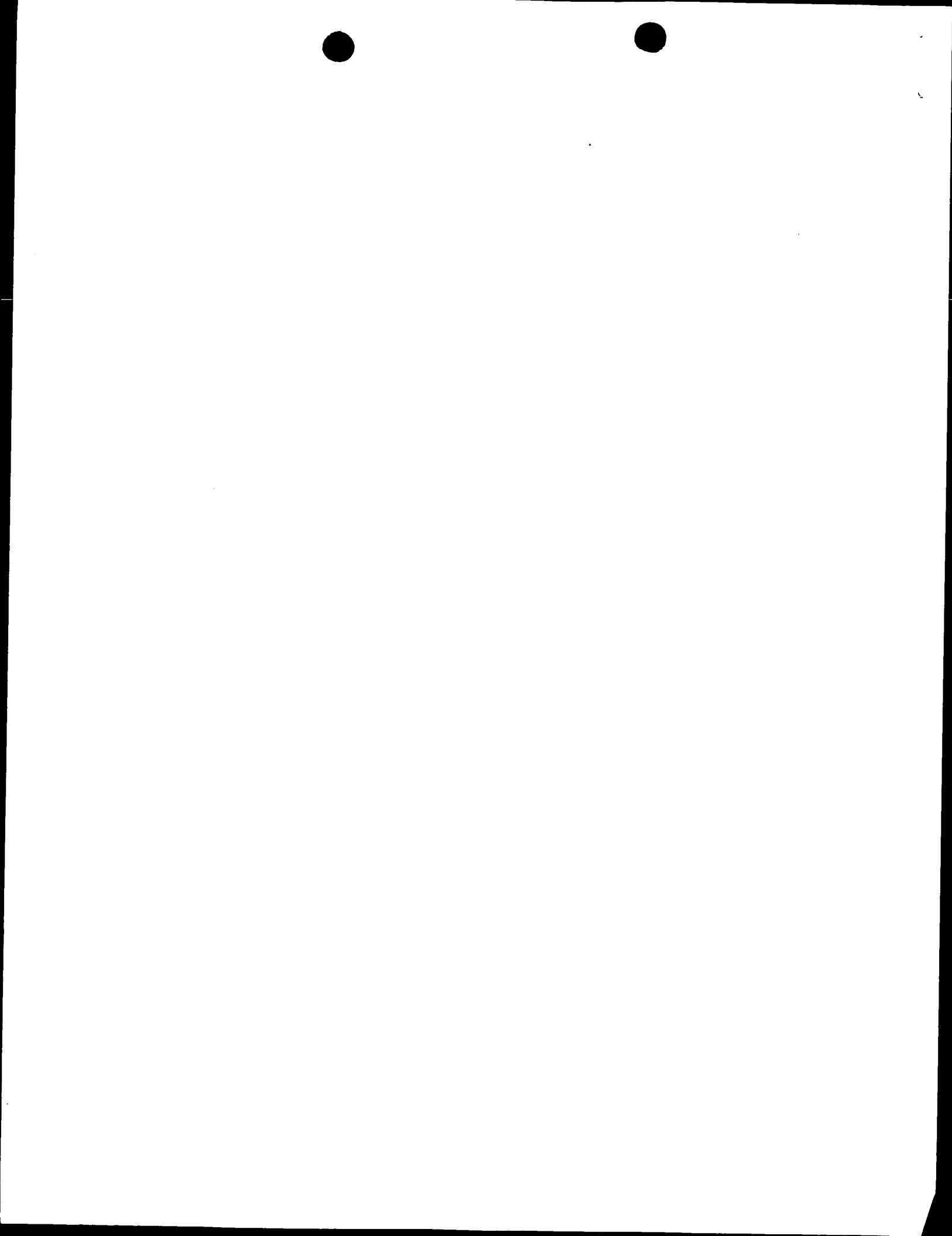
☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 01 March 1999 (01.03.1999)	Date of completion of this report 26 October 1999 (26.10.1999)
Name and mailing address of the IPEA/JP Japanese Patent Office, 4-3 Kasumigaseki 3-chome Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan Facsimile No.	Authorized officer Telephone No. (81-3) 3581 1101



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/03460

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.
These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

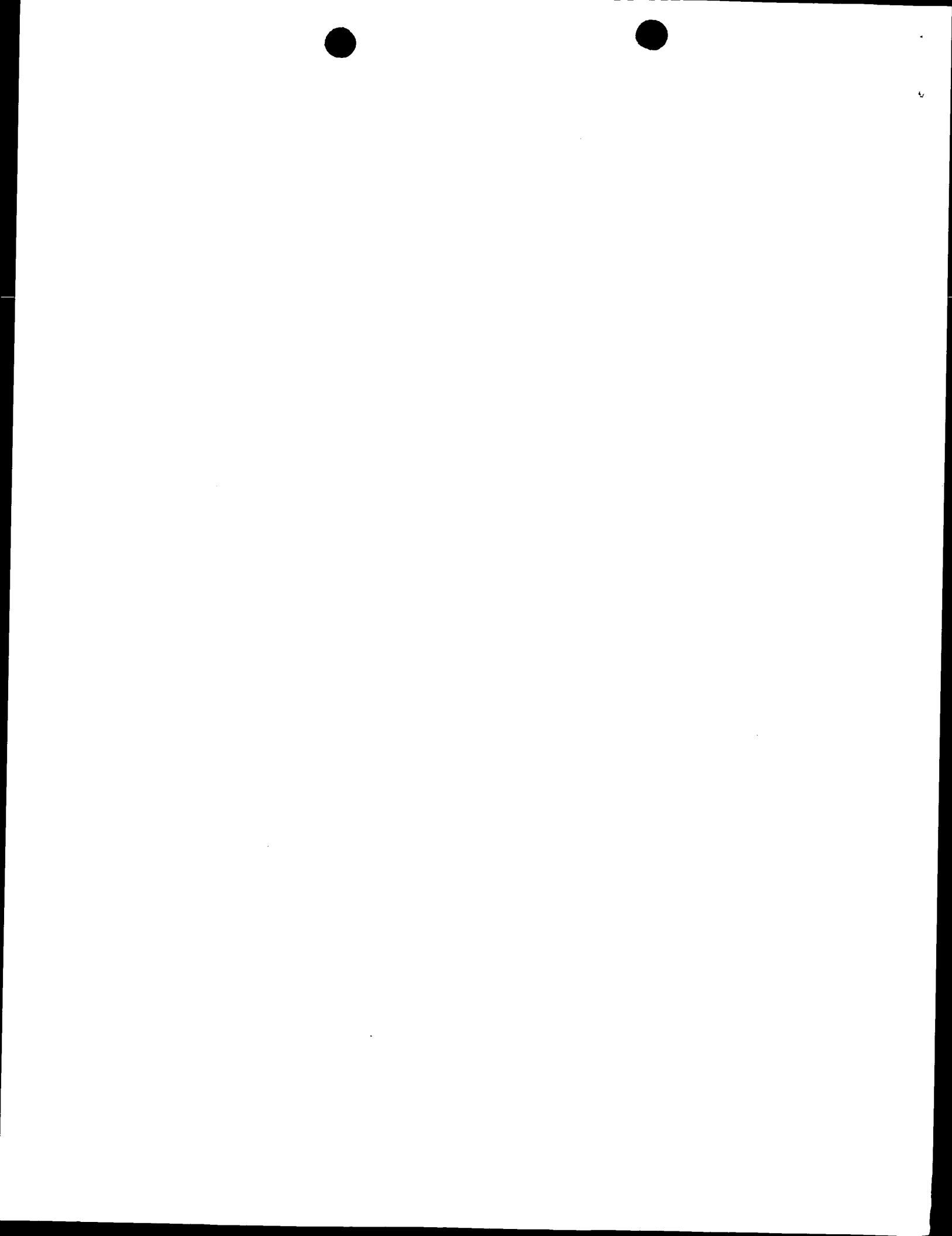
4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/03460

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 13, 27

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 13, 27
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

See the Supplemental Box.

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 98/03460

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III. 1.

The above-mentioned claims pertain to methods for
treatment of the human body by therapy.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/JP 98/03460

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-12, 14-26, 28-32	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-12, 14-26, 28-32	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-12, 14-26, 28-32	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Compositions that contain a daizein-containing material
~~and a microorganism capable of metabolising daizein to~~

give equol are not disclosed or suggested in any of the documents cited in the international search report. Therefore, the invention disclosed in Claims 1 through 12, 14 through 26 and 28 through 32 is novel and involves an inventive step.

TRANSLATION

INTERNATIONAL FORM

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT

issued pursuant to Rule 7.1 by the INTER-
NATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY identified
at the bottom of this page

Depositor : Name : OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.
Akihiko OTSUKA, President
Address : 9, Kandatsukasacho 2-chome, Chiyoda-ku,
Tokyo, Japan

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY:
Streptococcus E-23-17	FERM BP- 6450
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I above was accompanied by: <input type="checkbox"/> a scientific description <input type="checkbox"/> a proposed taxonomic designation	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I above, which was received by it on July 7, 1997 (original deposition date.)	
IV. RECEIPT OF REQUEST OF TRANSFER	
This International Depositary Authority received the microorganism identified under I above on July 7, 1997 (original deposition date), and received a request of transfer based on Budapest Treaty from the original deposit dated July 22, 1998. (Transferred from FERM P-16313 deposited on July 7, 1997)	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name : National Institute of Bioscience and Human-Technology Agency of Industrial Science and Technology Dr. Shinichi Ohashi, Director-General (seal) Address : 1-3, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, 305-8566, Japan July 22, 1998	

VERIFICATION OF TRANSLATION

Re: JAPANESE PATENT APPLICATION NO. 1997-214604

I, Yumi KUJIME, of Kitahama TNK Building,
7-1, Dosho-machi 1-chome, Chuo-ku, Osaka-shi,
Osaka 541-0045, Japan

hereby declare that I am the translator of the
~~document attached and certify that the following is~~
true translation to the best of my knowledge and
belief.

Signature of translator

Yumi Kujime

Yumi KUJIME

Dated this 13th day of February, 2002

[Document Name] Specification

[Title of the Invention] ISOFLAVONE-CONTAINING COMPOSITION

[Claims]

[Claim 1] An isoflavone-containing composition comprising
5 a isoflavone and a strain of microorganism capable of
metabolizing daidzein to equol.

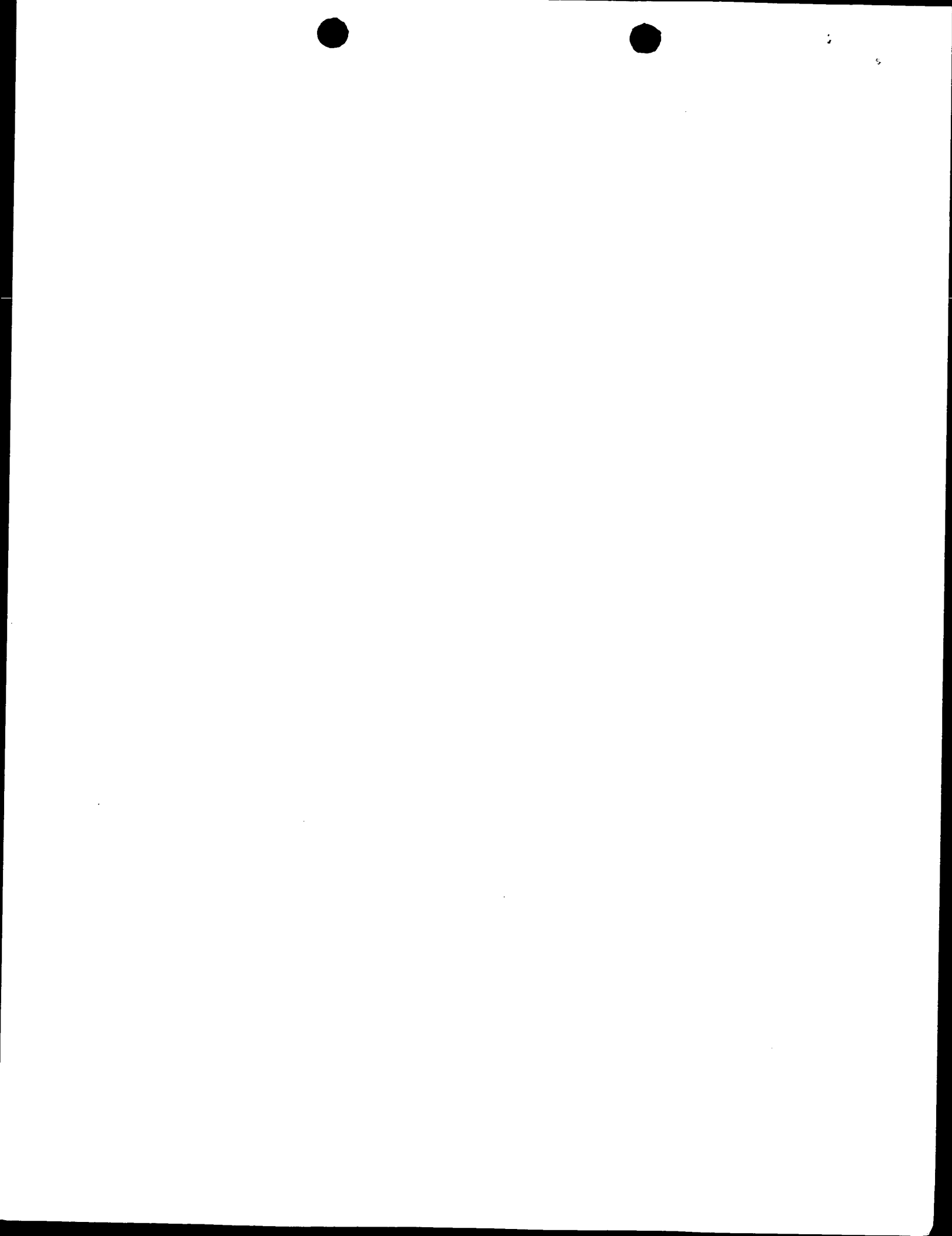
[Claim 2] The isoflavone-containing composition according
to Claim 1 wherein the strain of microorganism capable of
metabolizing daidzein to equol is at least one member

10 selected from the group consisting of Bacteroides ovatus,
Streptococcus intermedius and Streptococcus constellatus.

[Claim 3] The isoflavone-containing composition according
to Claim 1 or 2 which further contains at least one
component that favors the maintenance and growth of the
15 strain of microorganism capable of metabolizing daidzein
to equol.

[Claim 4] The isoflavone-containing composition according
to Claim 3 wherein the component that favors the
maintenance and growth of the strain of microorganism
20 capable of metabolizing daidzein to equol is at least one
substance selected from the group consisting of lacto-
oligosaccharide, soya oligosaccharide, lactulose, lactitol
and fructo-oligosaccharide.

[Claim 5] An equol-containing composition comprising equol
25 obtained by causing a strain of microorganism capable of



metabolizing daidzein to equol to act upon a isoflavone.

[Claim 6] The composition according to Claims 1-4 wherein the food form is selected from the group consisting of drinks, dairy products, fermented milk, bars, granules,

5 powders, capsules and tablets.

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Technical Field to Which the Invention Pertains]

The present invention relates to an isoflavone

10 containing composition and equal-containing composition, and more particularly to a novel composition either comprising blending an isoflavone such as diadzein, genistein, daidzin or genistin with a specific strain of microorganism or comprising equol, which composition is
15 useful for the prevention and palliation of unidentified clinical symptoms in middle-aged to elderly women, inclusive of menopausal syndrome.

[0002]

[Prior Art]

20 The documented collaborative research of National Cancer Center of Japan and Helsinki University (Finland) attributes the low incidence of gender-specific carcinomas such as carcinoma of the prostate in men and carcinoma of the breast or ovary in women among the
25 Japanese as compared with the European and American people

to the greater intake by the Japanese of soybean-derived foods and the consequent well-coordinated balance of hormones (H. Adlercreutz, et al., (1992) Lancet, 339, 1233; H. Adlercreutz, et al., (1992) Lancet, 342, 1209-5 1210).

[0003]

Recently, there has been a mounting interest in the fact that isoflavones have estrogen (female hormone)-like activity (A. Molteni, et al., (1995) J. Nutr., 125, 10 751S-756S), and it has been reported that these compounds are effective in osteoporosis which develops after the menopause when estrogen secretions have subsided or ceased (D. Agnusdei, et al., (1995) Bone and Mineral, 19 (Supple), S43-S48) as well as in menopausal syndrome (D. D. Baird, 15 et al., (1995) J. Clin. Endocrinol, Metab., 80, 1685-1690; A. L. Murkies, et al., (1995) Maturitas., 21, 195-198).

[0004]

According to the result of a survey undertaken by Margaret Lock (M. Lock, et al., (1988) Maturitas., 10, 20 317-332), the incidence of climacteric symptoms among the Japanese women is extremely low as compared with the Canadian counterparts. Based on the report, H. Adlercreutz and coworkers conjecture that the Japanese women ingest large amounts of processed soybean foods such 25 as tofu, miso, soy sauce, etc. and, hence, the plant

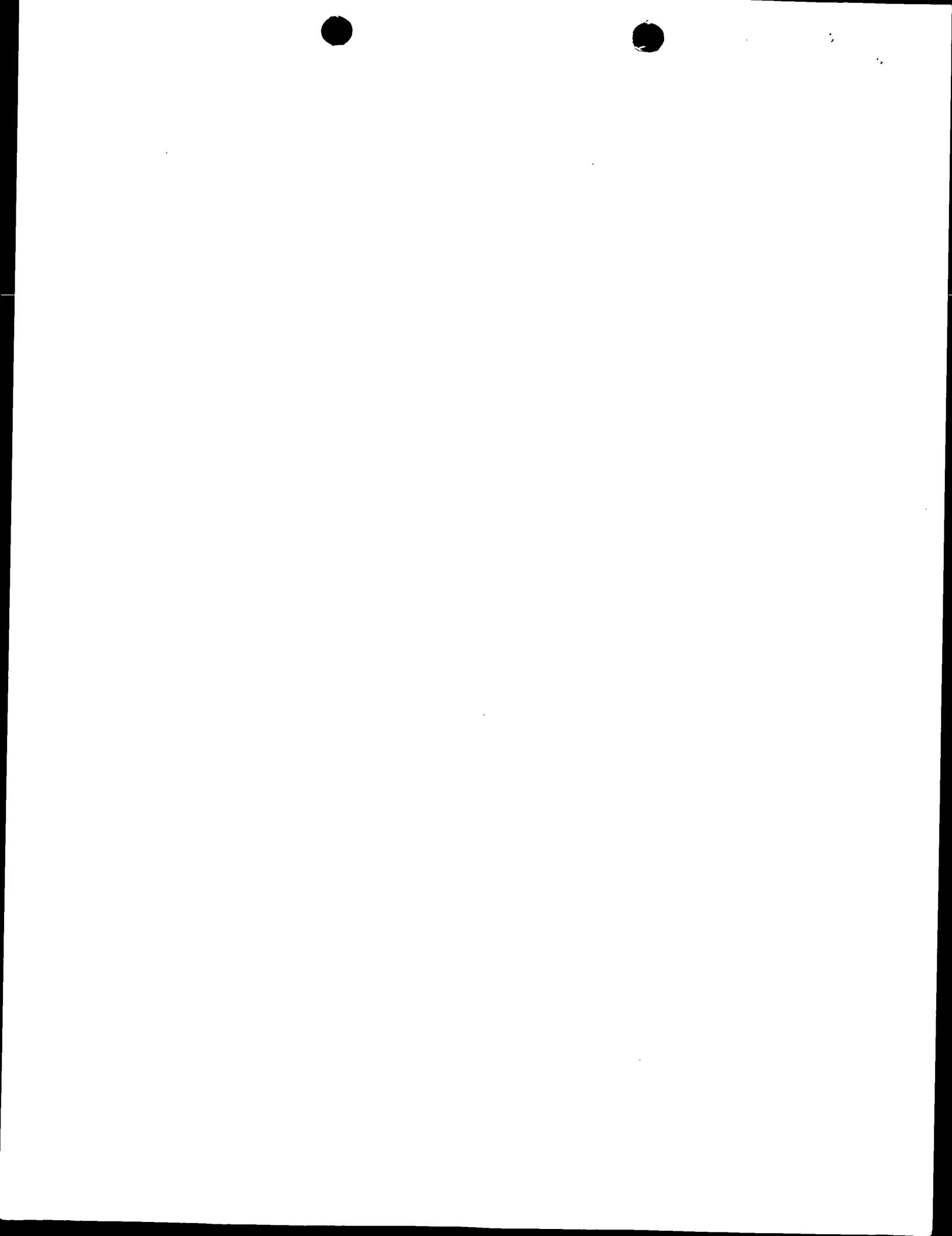
estrogens (isoflavones) contained in those foods are responsible for the low incidence of menopausal symptoms. The same authors further report that, comparing the urinary excretions (24-hour urine) which are known to
5 reflect the amount of absorption of isoflavones actually ingested, the urinary excretions in the Japanese women are tens of times as high compared with the Western women (C. Herman, et al., (1995), J. Nutr., 125, 757S-770S).

[0005]

10 It is, thus, considered that the intake of isoflavones is effective for the palliation and prevention of postmenopausal osteoporosis and menopausal syndrome. Particularly, the postmenopausal life expectancy in women has reportedly increased to more than 30 years owing to
15 the recent trend toward longevity and the alleviation and prevention of various diseases and symptoms which may develop after the menopause have important meanings in that they would lead to improvements in quality of life (QOL).

20 [0006]

 However, the above report, i.e. the survey report on the amount of intake of isoflavones and the urinary excretions of isoflavones in the middle-aged to elderly women in Japan reflects the results generated in a
25 limited rural area and no substantive information is



available. Moreover, the correlation between the onset of menopausal syndrome and the amount of intake of isoflavones has not been squarely analyzed and revealed.
[0007]

5 [Problem to be Solved by the Invention]

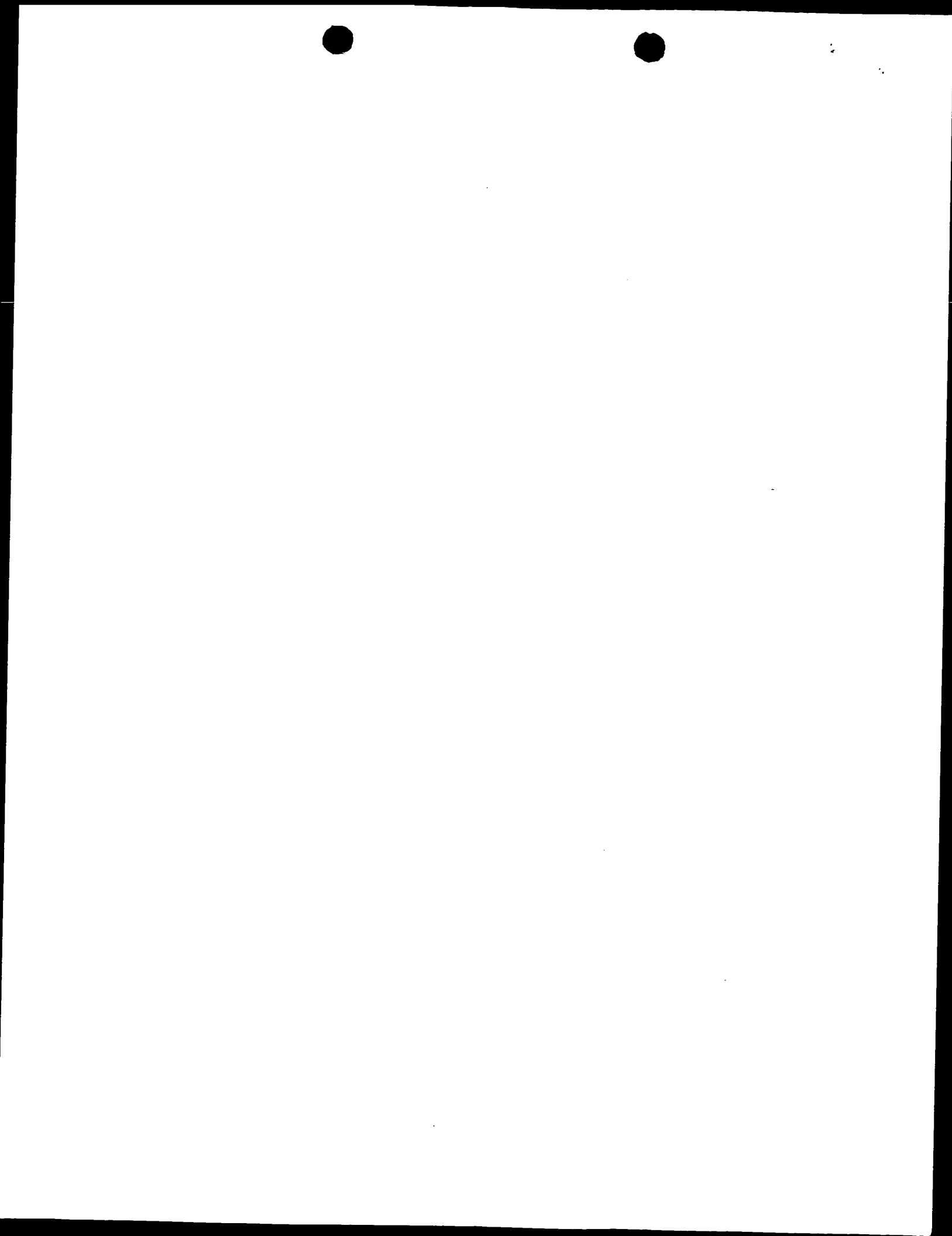
Therefore, the object of the present invention is to provide a novel composition which is effective for the prevention and palliation of the unidentified clinical symptoms in middle-aged to elderly women including the
10 menopausal syndrome, for which no effective means of prophylaxis or relief has been available.
[0008]

To accomplish the above object, the inventors of the present invention first conducted a diet or food menu
15 survey, determination of urinary excretions of isoflavones, and a questionnaire survey about menopausal syndrome (unidentified clinical symptoms) in perimenopausal women in a broad geographical area including urban communities. According to the results of the above surveys conducted in
20 116 women aged between 40 and 60 who belonged to Fukuoka Prefectural Dietitians Association, the average amounts of intake of isoflavones were 9 mg/day for daidzein and 13 mg/day for genistein. The average urinary excretions of isoflavones were 19.6 μ mol/day for daidzein, 10.0 μ mol/day
25 for genistein, and 11.9 μ mol/day for equol (mean of

subjects in whom it was detected). Incidentally, although daidzein and genistein were detected in all the subjects, equol was detected only in 46 (51.6%) of the 95 subjects.
[0009]

5 Furthermore, women with paramenia and those within 5 years of the menopause being taken together as menopausal subjects, a questionnaire survey was conducted using 17 items which are in routine use in the diagnosis of menopausal syndrome and the simplified menopausal index
10 (SMI) was calculated. With taking subjects with SMI values not less than 20 as a group of high climacteric symptoms and those with SMI values not greater than 19 as a group of low climacteric symptoms, the amount of intake of isoflavones and the urinary excretion of isoflavones
15 were respectively compared between the groups. As a result, whereas no intergroup difference was found in the amount of intake of daidzein, the amount of intake of genistein tended to be lower in the group of high climacteric symptoms at $p = 0.0643$. With regard to the
20 urinary excretions of isoflavones, no intergroup difference was found with respect to daidzein and genistein, but the excretions of equal were significantly low ($p < 0.01$) in the group of high climacteric symptoms.
[0010]

25 The above results led the present inventors to



the finding that unidentified clinical symptoms in menopausal women are more closely related to the amount of intake of genistein and the urinary excretion of equal.
[0011]

5 In the past the relationship between the amounts of intake and urinary excretion of isoflavones and their physiological effect has been discussed without regard to specific kinds of isoflavones such as daidzein and
10 genistein but the results of the survey conducted by the present inventors in the Japanese middle-aged and elderly women made it clear that not only the amounts of intake and urinary excretion of isoflavones in general but also the amount of intake of genistein and the urinary
15 excretion of equol relate to the physiological effect of isoflavones, and that the rate of metabolic conversion of daidzein to equol is also closely related to unidentified clinical climacteric symptoms in menopausal women.
[0012]

 In another study undertaken by the inventors in
20 healthy adult volunteers (25~33 years of age), it was found that the urinary excretions of isoflavones (daidzein and genistein) after single ingestion of soy milk are increased in a dose-related fashion, whereas in subjects who showed no urinary excretion of equol, equol was not
25 detected in the urine even when the amount of intake of

soy milk was increased two-fold, indicating the existence of individual difference in the metabolic pathway from daidzein to equol.

[0013]

5 Based on the above findings the present inventors conducted further research and, as a result, developed a novel composition which comprises equol which is not detected in processed soybean products nor is it

10 taken into the body from foods in ordinary diets and a novel composition which comprises a strain of microorganism capable of metabolizing daidzein to equol and isoflavones such as daidzein in combination. The inventors then discovered that the intake of whichever of the above compositions is effective in the prevention and
15 palliation of unidentified clinical symptoms in middle-aged and elderly women and have accordingly succeeded in providing a composition to meet the object.

[0014]

[Means for Solving the Problem]

20 The present invention provides an isoflavone-containing composition which is characterized by comprising an isoflavone and a strain of microorganism capable of metabolizing daidzein to equol.

[0015]

25 According to the present invention, there can be

provided the isoflavone-containing composition wherein the strain of microorganism capable of metabolizing daidzein to equol is at least one member selected from the group consisting of Bacteroides ovatus, Streptococcus intermedius and Streptococcus constellatus; the isoflavone-containing composition which further contains at least one component that favors the maintenance and growth of the strain of microorganism capable of metabolizing daidzein to equol; the isoflavone-containing composition wherein the component that favors the maintenance and growth of the strain of microorganism capable of metabolizing daidzein to equol is at least one substance selected from the group consisting of lacto-oligosaccharide, soya oligosaccharide, lactulose, lactitol and fructo-oligosaccharide; and the isoflavone-containing composition wherein the food form is selected from the group consisting of drinks, dairy products, fermented milk, bars, granules, powders, capsules and tablets.

[0016]

The present invention further provides an equol-containing composition which is characterized by comprising equol obtained by causing a strain of microorganism capable of metabolizing daidzein to equol to act upon a isoflavone, whose the food form is selected from the group consisting of drinks, dairy products,

fermented milk, bars, granules, powders, capsules and tablets.

[0017]

[Mode for Carrying out the Invention]

5 In the present invention, isoflavones derived from soybean, kudzu, their processed products and their fermentation products can be used as one ingredient (i.e. soya isoflavones) to construct the composition of the invention, but the isoflavones contained in plants such as
10 red clove and alfalfa can also be used. The processed products include, for example, tofu, soy sauce, abura-age, soy milk and the like and the fermentation products include natto, miso, tempeh and the like.

[0018]

15 In the isoflavone-containing composition of the invention, a strain of microorganism having an ability (metabolic activity) to produce equol from daidzein is used as the other ingredient. The microorganism mentioned above includes those belonging to Bacteroides ovatus,
20 Streptococcus intermedius, and Streptococcus constellatus. Particularly preferred among such microorganisms are Bacteroides E-23-15 (FERM P-16312), Streptococcus E-23-17 (FERM P-16313) and Streptococcus A6G-225 (FERM P-16314), all of which were isolated from human stools and deposited
25 for accession by the present inventors.

[0019]

The above strain of microorganism may generally be the live microorganism as such. However, it is not limited thereto but includes its culture, a crude or
5 purified product thereof, and their lyophilizates. Its proportion is not particularly restricted but can be judiciously selected according to the kind of microorganism, among other factors. For example, in the case of *Streptococcus intermedius* in fermented milk, the
10 bacterial count is preferably controlled within the range of about $10^8 \sim 10^9$ cells/mol. The bacterial count is determined by inoculating an agar medium with a diluted sample, incubating the inoculated medium anaerobically at 37°C and counting the colonies formed.

15 [0020]

The composition of the invention using the microorganisms capable of metabolizing daidzein to equol further preferably contains a nutrient component particularly suited to the maintenance and growth of the
20 particular strain of microorganism. The nutrient component includes but is not limited to lacto-oligosaccharide, soya oligosaccharide, lactulose, lactitol, fructo-oligosaccharide, and the like. The formulating amount of such nutrients is not particularly restricted
25 but generally is preferably selected from the range of

about 5~10 weight % based on the total composition of the invention.

[0021]

The composition of the invention is generally prepared by blending predetermined amounts of said ingredients and processing the mixture into a suitable form such as drinks, dairy products, fermented milk, bars, granules, powders, capsules, tablets and tablets. The blending ratio of isoflavones and specific strain of microorganism is not particularly critical. However, it is preferred in general to blend not less than 10 mg of isoflavone as genistein, 1~5 g of oligosaccharide and $10^9 \sim 10^{10}$ cells (as viable cells) of microorganisms.

[0022]

Since the isoflavone-containing composition of the invention contains a strain of microorganism (primarily live cells) as mentioned above, the composition preferably should not be subjected to heating and/or pressurization in the course of processing into final products. Therefore, in processing the composition of the invention into such forms as bars, granules, powders, tablets, etc., it is preferable to add the microorganism as lyophilized cells as such or lyophilized cells coated with a suitable coating agent.

[0023]

Examples of other materials which may be blended to the composition of the invention include calcium, vitamin D, vitamin C, vitamin E and the like.

[0024]

5 Further, according to the present invention, an equol-containing composition comprising equol obtainable by causing a strain of microorganism capable of utilizing daidzein to produce equol to act upon a isoflavone,

10 especially upon isoflavones derived from soya bean, kudzu and their processed food or fermented food is provided in the form of drinks, dairy products, fermented milk, bars, granules, powders, capsules, tablets and tablets.

[0025]

15 The equol-containing composition of the invention is very safe because the active ingredient thereof is a native substance as mentioned above and also advantageous in that it can be obtained in high yield and at low production cost.

[0026]

20 Here, equol is prepared by fermentation of the isoflavones derived from soya isoflavone, kudzu, red clove and alfalfa, preferably food materials containing soya isoflavone utilizing the microorganisms. Examples of the food materials include tofu, soy milk, soya beans, soya
25 bean embryo extracts and the like.

[0027]

More particularly, the preparation of equol from isoflavone comprises sterilizing the food materials in solution form, adding the predetermined strain of
5 microorganism thereto, and incubating the mixture at 37°C either under anaerobic conditions or under aerobic stationary conditions for about 24-48 hours to let fermentation proceed [where necessary, a pH control agent, a reducing substance (e.g. yeast extract, vitamin K₁) can
10 be added].

[0029]

The form mentioned above includes but is not limited to drinks, milk products, fermented milk, bars, granules, powders, capsules, and tablets.

15 [0030]

The amount of equol in the resulting composition of the invention may preferably be about 10~50 mg based on 100 g of the total composition.

[0031]

20 The amount of intake of the composition of the invention is not particularly restricted but can be generally selected so that the urinary excretions of equol after ingestion of the composition will not be less than 5 μ M/day.

25 [0032]

[Example]

For a further detailed description of the invention, examples of preparation of foods of the invention, however, it is to be understood that the scope
5 of the invention is by no means delimited by those specific examples.

[0033]

[Example 1] Preparation of a drink

The ingredients according to the following
10 recipe were weighed and blended to provide the composition of the invention in the form of a beverage.

[0034]

water-soluble soybean protein	10 ml
Lacto-oligosaccharide (55% content)	10.0 g
15 Vitamins & minerals	q.s.
Flavor	q.s.
Water	q.s.
Total	150 ml

[0035]

20 [Example 2] Preparation of a fermented milk

The ingredients according to the following recipe were weighed and blended to provide the isoflavone-containing composition of the invention in the form of fermented milk.

25 [0036]

	Water-soluble soybean protein	2.2 g
	Lacto-oligosaccharide (55% content)	10.0 g
	Streptococcus A6G-225-fermented milk	100 ml
	Vitamins & minerals	q.s.
5	Flavor	q.s.
	Water	q.s.
	Total	50 ml

The Streptococcus·intermedius fermented milk was

prepared by adding 10^9 cells of Streptococcus·intermedius
10 (FERM P-16313) to 1 liter of milk and incubating the
mixture at 37°C for 24 hours.

[0037]

[Example 3] Preparation of a fermented soy milk
lyophilizate

15 Using 1 ml of a suspension of about 10^7 cells/ml
of Streptococcus·intermedius (FERM P-16313), 100 g of soy
milk was caused to undergo lactic acid fermentation at
37°C for 24 hours to provide equol. This product was
lyophilized. The equol content of this freeze-dried
20 powder was 0.1~0.3 weight %.

[0038]

The above powder and other ingredients according
to the following recipe were weighed and blended to
provide the composition of the invention in the form of a
25 fermented soy milk lyophilizate.

[0039]

	Fermented soy milk lyophilizate	2.2 g
	Excipient	q.s.
	Vitamins & minerals	q.s.
5	Flavor	q.s.
	Total	20 g

As the excipient, 17 g of cornstarch was used.

[0040]

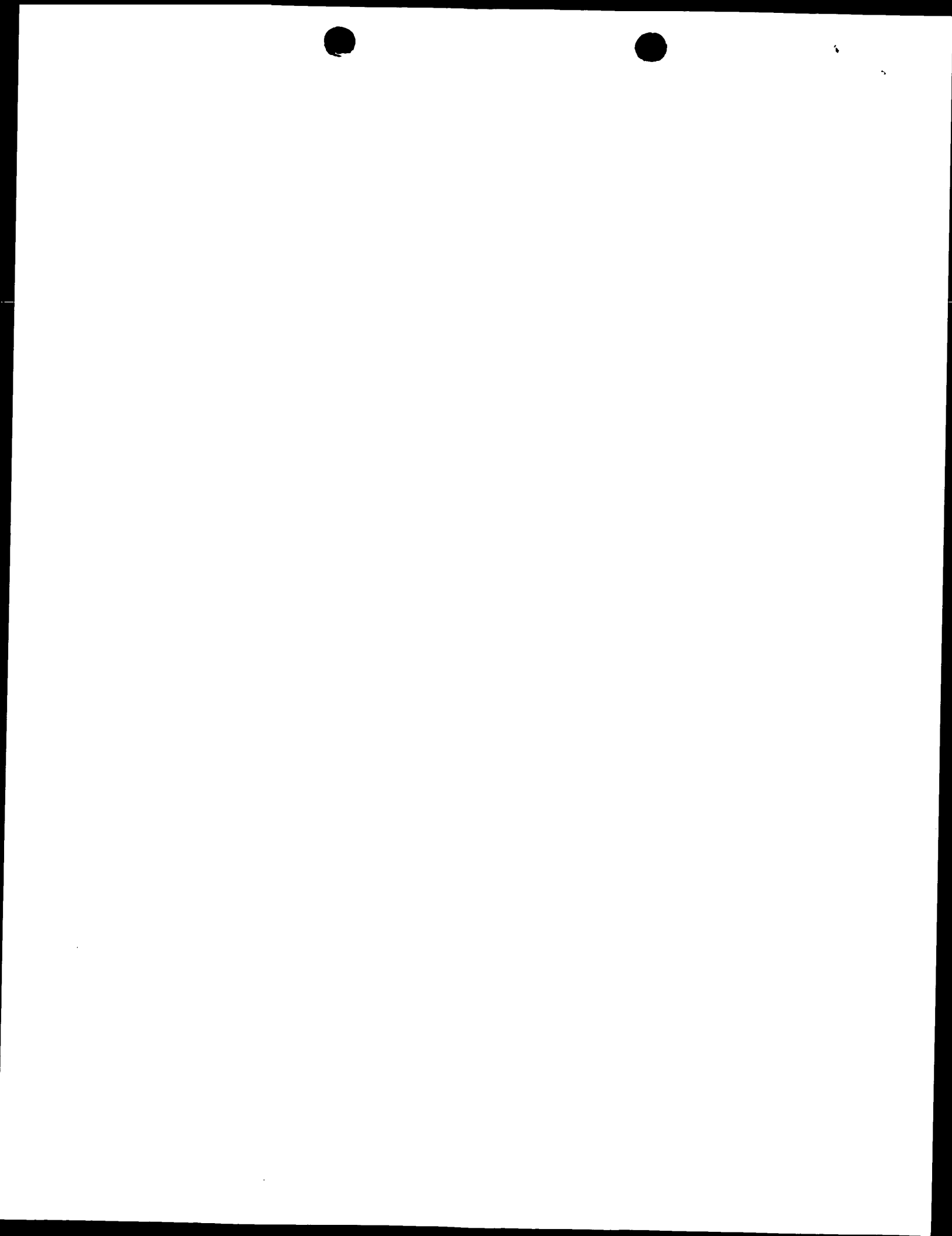
[Example 4] Preparation of powders

10 The ingredients according to the following
recipe were weighed and blended to provide the composition
of the invention in powdery form.

[0041]

	Crude soya isoflavone powder	4.1 g
15	Lacto-oligosaccharide (55% content)	10.0 g
	Streptococcus E-23-17 lyophilizate	1.0 g
	Vitamins & minerals	q.s.
	Flavor	q.s.
	Total	20 g

20 The Streptococcus·intermedius lyophilizate was
prepared by growing Streptococcus·intermedius fermented
milk of Example 2 or Streptococcus·intermedius (FERM P-
16313) in a suitable liquid growth medium (GAM broth)
(37°C, 24~48 hours) and then lyophilizing the resulting
25 culture. The bacterial cell content of this freeze-dried



powder was $10^9 \sim 10^{10}$ cells/g.

[0042]

[Example 5] Preparation of granules

The ingredients according to the following
5 recipe were weighed and blended to provide the composition
of the invention in granular form.

[0043]

	Crude soya isoflavone powder	4.1 g
	Lacto-oligosaccharide (55% content)	10.0 g
10	Streptococcus E-23-17 lyophilizate	1.0 g
	Sorbitol	q.s.
	Vitamins & minerals	q.s.
	Flavor	q.s.
	Total	20 g

15 As the Streptococcus intermedius lyophilizate,
the same freeze-dried powder as in Example 4 was used.

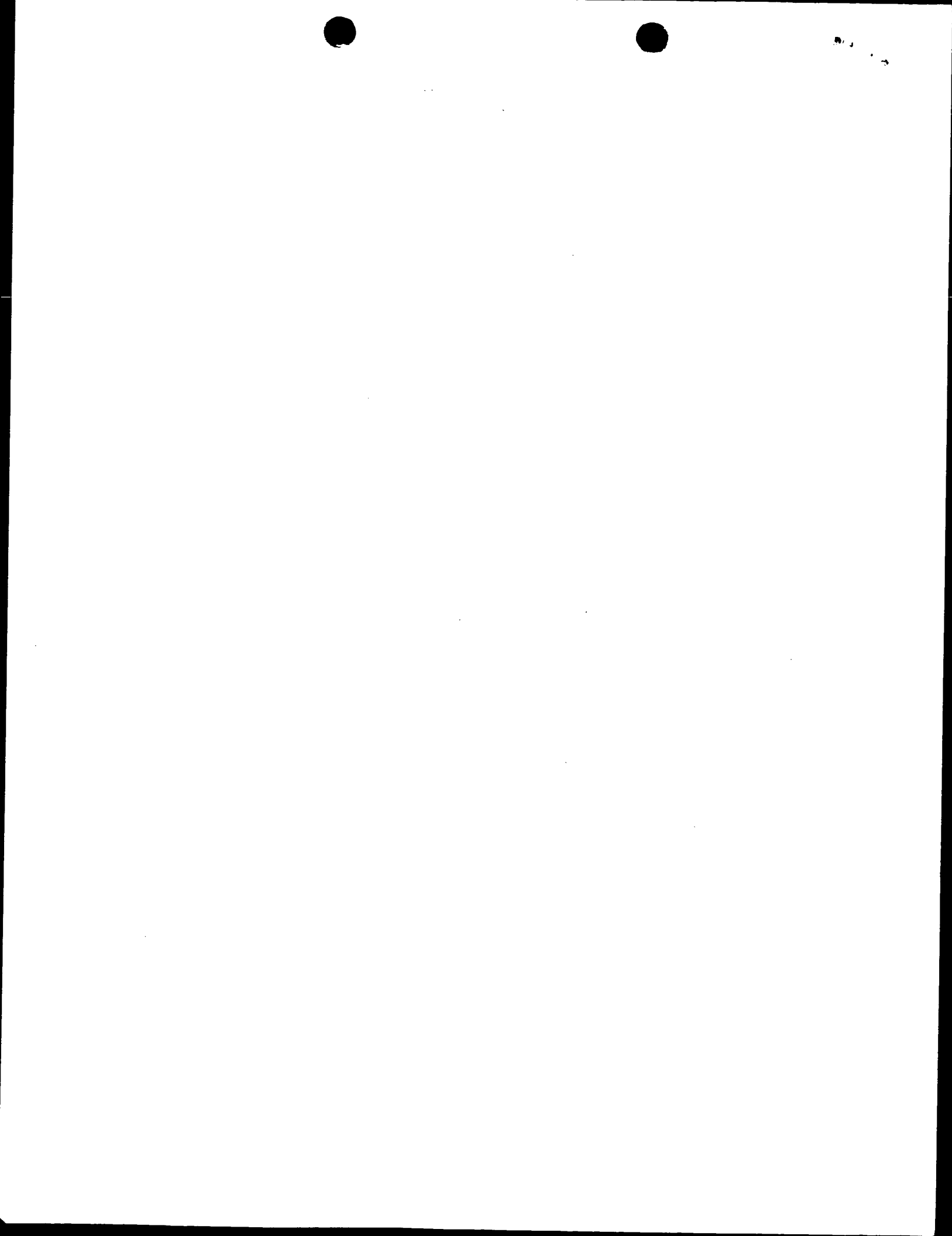
[Document Name] Abstract

[Abstract]

[Object] This invention provides a novel composition which is effective in the prevention and palliation of
5 unidentified clinical symptoms inclusive of menopausal syndrome in middle-aged to elderly women for which no effective means of prophylaxis or relief has heretofore been available.

[Method for Achieving the Object] An isoflavone-containing
10 composition comprising isoflavone in combination with a strain of microorganism capable of metabolizing daidzein to equol or an equol-containing composition comprising equol.

[Selected Figure] None



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C. 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year)

11 February 2000 (11.02.00) (Remailing)

International application No.

PCT/JP98/03460

Applicant's or agent's file reference

P98-30

International filing date (day/month/year)

04 August 1998 (04.08.98)

Priority date (day/month/year)

08 August 1997 (08.08.97)

Applicant

UCHIYAMA, Shigeto et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

01 March 1999 (01.03.99)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election



was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Shinji IGARASHI

Telephone No.: (41-22) 338.83.38



(51) 国際特許分類6 A61K 35/74, 35/78, A23L 1/30, C12N 1/20 // A61K 31/35, C07D 311/36	A1	(11) 国際公開番号 WO99/07392 (43) 国際公開日 1999年2月18日(18.02.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/03460 (22) 国際出願日 1998年8月4日(04.08.98) (30) 優先権データ 特願平9/214604 1997年8月8日(08.08.97) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 大塚製薬株式会社 (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒101-0048 東京都千代田区神田司町2丁目9番地 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 内山成人(UCHIYAMA, Shigeto)[JP/JP]	正木恭介(MASAKI, Kyosuke)[JP/JP] 〒830-0027 福岡県久留米市長門石2-2-80-901号 Fukuoka, (JP) 清水精一(SHIMIZU, Seiichi)[JP/JP] 〒841-0051 佐賀県鳥栖市元町1237-2 1001号 Saga, (JP) (74) 代理人 弁理士 三枝英二, 外(SAEGUSA, Eiji et al.) 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町1-7-1 北浜TNKビル Osaka, (JP) (81) 指定国 AU, CA, CN, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 <small>国際特許協力条約第34条第2項に規定する書類</small>	
〒841-0027 佐賀県鳥栖市元町1237-2 1001号 Saga, (JP) 上野友美(UENO, Tomomi)[JP/JP] 今泉記代子(IMAIZUMI, Kiyoko)[JP/JP] 〒830-0027 福岡県久留米市長門石5-8-14 第1ハイマート執行302号 Fukuoka, (JP) 久米村恵(KUMEMURA, Megumi)[JP/JP] 〒839-0862 福岡県久留米市野中町1175-1 ファミールハイツ久留米608号 Fukuoka, (JP)		
(54)Title: ISOFLAVONE-CONTAINING COMPOSITIONS (54)発明の名称 イソフラボン含有組成物 (57) Abstract Compositions, etc., which contain as the essential components a daizein-containing material and a microorganism capable of metabolizing daizein to give equol. These compositions are efficacious in preventing and relieving unidentified complaints in women of middle and old ages, involving climateric symptoms which cannot be efficaciously prevented nor relieved by any conventional means.		

(57)要約

本発明は、ダイゼイン含有物と、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物とを必須成分として含有する組成物等を提供するものであって、該組成物は、従来有効な予防法や緩和手段のなかった更年期障害を含む中高年女性の不定愁訴の予防乃至緩和に有効である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BJ	ベナン	HR	クロアチア	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CA	カナダ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CC	中央アフリカ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	VN	ウイエトナム
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CY	キプロス	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CZ	チェコ	KR	韓国	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア		
DK	デンマーク	LC	セントルシア	SD	スーダン		
EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン		
ES	スペイン			SG	シンガポール		

明 細 書

イソフラボン含有組成物

技 術 分 野

本発明は、イソフラボン含有組成物、より詳しくは、
5 ダイゼイン含有物と、ダイゼインを資化してエクオール
を産生する能力を有する微生物とを配合してなるか又は
上記ダイゼイン含有物に該微生物を作用させて得られる
エクオールを配合してなり、中高年女性における不定愁
訴乃至閉経に伴われる各種症状の予防乃至緩和に有用な
10 新しい組成物に関する。

背 景 技 術

男性の前立腺癌や女性の乳癌、卵巣癌等の性別に特有
の癌が、欧米人と比べて日本人に少ないのは、日本人が
イソフラボン誘導体を含む大豆製品等をより多く摂取し、
15 これによってホルモンのバランスがよく保たれているた
めであるという報告が、国立がんセンターとヘルシンキ
大学（フィンランド）との共同研究によりまとめられて
いる（H. Adlercreutz, et al., (1992) Lancet, 339,
1233; H. Adlercreutz, et al., (1992) Lancet, 342,
20 1209-1210）。

最近では、イソフラボン誘導体がエストロゲン（女性
ホルモン）様作用（A. Molteni, et al., (1995) J.

Nutr., 125, 751S-756S) を有することが注目されており、これがエストロゲンの分泌が低下或いは消失する閉経後の骨粗鬆症 (D. Agnusdei, et al., (1995) Bone and Mineral, 19 (Supple), S43-S48) や更年期障害 (D. D. Baird, et al., (1995) J. Clin. Endocrinol. Metab., 80, 1685-1690; A. L. Murkies, et al., (1995) Maturitas., 21, 195-198) に対して有効であると報告されている。

また、マーガレット ロック (Margaret Lock) の調査 (M. Lock, et al., (1988) Maturitas., 10, 317-332) では、日本人女性の更年期症状の出現率は、カナダ女性に較べて非常に低いことが示されている。これを受けて、アドラークロイツ (H. Adlercreutz) らは、日本人女性は豆腐、味噌、醤油等の大豆加工食品を多く摂取しており、之等に含まれている植物エストロゲン (イソフラボン誘導体) が、更年期症状の出現を低くしていると考えている。また彼らは、実際に摂取されたイソフラボン誘導体の吸収量を反映するといわれている尿中排泄量 (24 時間) を比較した結果、日本人女性は欧米人女性に比べて該尿中排泄量が数十倍高いことを報告している (C. Herman, et al., (1995), J. Nutr., 125, 757S-770S)。

以上のように、閉経後の骨粗鬆症や更年期障害等の緩

和や予防には、ダイゼイン、ゲニステイン、ダイジン、ゲニスチン等のイソフラボン誘導体の摂取が、有効であると考えられている。特に、昨今の女性の寿命延長に伴われる閉経後の人生は30年以上になるといわれ、この
5 時期に現われる各種疾患乃至症状の緩和や予防は、QOL（クオリティーオブライフ）の向上につながる点より、重要な課題となっている。

しかしながら、上記報告、即ち、我が国での中高年女性のイソフラボン誘導体の摂取量及び尿中イソフラボン
10 誘導体排泄量の調査報告は、農村部の限られた地域を対称とした報告であり、その実体についての詳細は不明であり、また、更年期障害の出現とイソフラボン誘導体摂取量との関連も殆ど検討はなされておらず、明らかにはされていない。

15 従って、本発明の目的は、従来有効な予防法や緩和手段の確立されていなかった更年期障害を含む中高年女性の不定愁訴の予防乃至緩和に有効な新しい組成物を提供することにある。

本発明者らは、上記目的より、更年期前後の女性を対象として都市部を含む広範囲で食事調査、尿中イソフラ
20 ボン誘導体排泄量の測定、及び更年期症状（不定愁訴）のアンケート調査をまず行なった。

福岡県栄養士会に所属する40～60歳の女性116名を対象に行なった上記調査結果によると、イソフラボン誘導体摂取量は、ダイゼインが平均9 mg/日、ゲニステインが平均13 mg/日であった。尿中イソフラボン誘導体排泄量は、ダイゼインが平均19.6 μ mol/日、ゲニステインが平均10.0 μ mol/日であり、またダイゼインの代謝物であるエクオールが平均11.9 μ mol/日（検出者の平均値）であった。尚、上記ダイゼインとゲニステインについては全ての対象者で検出されたが、エクオールは95名中46名（51.6%）にのみ検出された。

また、月経不順と閉経後5年以内のものを更年期者として、更年期障害の診断で使用されてきている17項目〔クッパーマンらの閉経指数(Kupperman H. S., et al., (1953), J. Clin. Endocrinol. Metabol., 13, 688-703)を改変した17項目、即ち、1.顔がほてる、2.汗をかきやすい、3.腰や手足がひえる、4.息切れがする、5.手足がしびれる、6.手足の感覚がにぶい、7.夜なかなか寝つかれない、8.夜眠ってもすぐ目を覚ましやすい、9.興奮しやすい、10.神経質である、11.つまらないことにくよくよする、12.めまいや吐き気がある、13.疲れやすい、14.肩こり、腰痛、手足の節々の痛みがある、15.頭が痛

い、16. 心臓の動悸がある、17. 皮膚をアリがはう様な感じがする] について、アンケート調査を行ない、簡易更年期指数 (S M I) を算出した。該 S M I が 20 以上の者を不定愁訴高値群とし、19 以下の者を不定愁訴低値
5 群として、各群に属する更年期者について、イソフラボン誘導体摂取量と尿中イソフラボン誘導体排泄量とを比較した。

その結果、ダイゼイン摂取量については、両群間に差を認めなかったが、ゲニステイン摂取量は、不定愁訴高
10 値群が $p = 0.0643$ で低い傾向にあった。尿中イソフラボン誘導体排泄量では、ダイゼイン及びゲニステイン共に両群間に差を認めなかったが、エクオール
の排泄量が不定愁訴高値群で有意に低かった ($p < 0.01$)。

以上の結果より、本発明者らは、更年期女性の不定愁
15 訴がイソフラボン誘導体の中でも特にゲニステインの摂取量及び尿中エクオール排泄量と密接に関連することを見出した。

これまでの知見では、ダイゼインやゲニステイン等のイソフラボン誘導体の種類に関係なく、イソフラボン誘
20 導体全体の摂取量及び尿中排泄量についてのみ、その生理作用との関係が論じられてきたが、本発明者らの日本人中高年女性の調査研究の結果から、単にイソフラボン

誘導体の摂取量及び尿中排泄量だけではなく、ゲニステイン摂取量及び尿中エクオール排泄量、特に更年期女性におけるダイゼインからエクオールへの代謝能が、不定愁訴と密接に関係していることを認めた。

- 5 また、本発明者らが別途に行なった健常成人（25～33歳）を対象とした試験では、イソフラボン誘導体含有食品の代表例である豆乳を単回摂取させた後の尿中イソフラボン誘導体（ダイゼイン及びゲニステイン）排泄量は、用量依存的に増加するが、エクオールが尿中に排泄されない人では、豆乳摂取量を2倍にしてもエクオールは検出されず、ダイゼインからエクオールへの代謝系には個人差のあることが判った。
- 10

尚、上記ダイゼインの代謝物であるエクオールは、大豆加工食品等のイソフラボン誘導体を含有する食品中には検出されず、また日常の食生活では食品からは殆ど摂取されないことが知られている（K. Reinli, et al., (1996), Nutr. Cancer, 26, 123-148）。

15

これらの知見をもとに、本発明者らは更に鋭意研究を重ねた結果、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力（代謝活性）を有する微生物と、ダイゼイン又はこれを含む適当な素材とを組合せた新しい組成物、及び上記微生物にてダイゼインを資化させて得られるエクオ

20

ールを含む新しい組成物の開発に成功すると共に、それらの摂取が中高年女性の不定愁訴の予防及び緩和に有効であるという事実を発見した。本発明はかかる知見に基づいて完成されたものである。

5 発 明 の 開 示

本発明によれば、まず、ダイゼイン含有物と、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物とを必須成分として含有する、食品形態又は医薬品形態の組成物（以下「イソフラボン含有組成物」という）

10 が提供される。

本発明によれば、次に、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物を、ダイゼイン含有物に作用させて得られるエクオールを含有する、食品形態又は医薬品形態の組成物（以下「エクオール含有組成物」と記載する）を提供する。

15 物」という)が提供される。

本発明によれば、また、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物が、バクテロイデス・オバタス、ストレプトコッカス・インターメディアス及びストレプトコッカス・コンステラータスからなる群

20 から選ばれる少なくとも1種である上記イソフラボン含有組成物及びエクオール含有組成物、特に該微生物が、
FERM BP-6435として寄託されたバクテロイ

デス E-23-15 (Bacteroides E-23-15)、FERMBP-6436として寄託されたストレプトコッカス E-23-17 (Streptococcus E-23-17)及びFERMBP-6437として寄託されたストレプトコッカス
5 A6G-225 (Streptococcus A6G-225)からなる群から選ばれる少なくとも1種である上記イソフラボン含有組成物及びエクオール含有組成物が提供される。

本発明によれば、また、上記微生物の維持、増殖成分、例えば乳果オリゴ糖、大豆オリゴ糖、ラクチュロース、
10 ラクチトール及びフラクトオリゴ糖からなる群から選択される少なくとも1種、を更に含有する上記イソフラボン含有組成物及びエクオール含有組成物が提供される。

本発明によれば、上記ダイゼイン含有物が、更にゲニステイン、ダイジン及びゲニスチンからなる群から選ばれる少なくとも1種を含むもの、より好ましくは大豆イ
15 ソフラボンである上記イソフラボン含有組成物及びエクオール含有組成物が提供される。

本発明によれば、また、中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる症状の予防及び処置を行なうための、
20 上記イソフラボン含有組成物及びエクオール含有組成物が提供される。

本発明によれば、また、食品形態が飲料、乳製品、発

酵乳、バー、顆粒、粉末、カプセル及び錠剤形態から選択されるものである上記イソフラボン含有組成物及びエクオール含有組成物が提供される。

- 本発明によれば、また、医薬品形態が水溶液、乳化液、
- 5 顆粒、粉末、カプセル及び錠剤形態から選択されるものである上記イソフラボン含有組成物及びエクオール含有組成物が提供される。

- 本発明によれば、更に、中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる症状の予防及び処置を行なう方法であって、該予防及び処置を要求される中高年女性に、上
- 10 記イソフラボン含有組成物又はエクオール含有組成物の有効量を投与する方法が提供される。

- 本発明によれば、更に、中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる症状の予防及び処置に有効な上記イ
- 15 ソフラボン含有組成物及びエクオール含有組成物の製造のための、ダイゼイン含有物及びダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物の使用が提供される。

- 本発明によれば、更に、ダイゼインに、ダイゼインを
- 20 資化してエクオールを産生する能力を有する微生物を作用させる、エクオールの製造方法も提供される。

本発明によれば、更に、FERM BP-6435と

して寄託されたバクテロイデス E-23-15、
FERM BP-6436として寄託されたストレプト
コッカス E-23-17及びFERM BP-
6437として寄託されたストレプトコッカス A6G
5 -225から選択される微生物も提供される。

以下、本発明イソフラボン含有組成物につき詳述する。

本発明イソフラボン含有組成物においては、一方の必須成分としてダイゼイン含有物を使用する。ここでダイゼイン含有物には、ダイゼイン自体の他、その配糖体であるダイジン及びこれらを含む各種の素材が包含される。
10 上記ダイゼインは、主に大豆、葛等の食素材、その加工品、例えば豆腐、油揚げ、豆乳等、及びその発酵調製物、例えば納豆、醤油、味噌、テンペ等に含まれており、本発明では、之等食素材、その加工品及び発酵調製物を上
15 記ダイゼイン含有物として利用することができる。特に、之等は、ダイゼインの他に、エストロゲン様作用を有する各種のイソフラボン誘導体、例えばゲニステイン、ダイジン、ゲニスチン等や、これらの一部がメチル化された前駆体であるバイオチェインA (Biochain A)、フォル
20 モネチン (Formonetin)等を含含有しており、本発明に好適に利用できる。

本発明に好適なダイゼイン含有物には、また大豆由来

の大豆イソフラボン、例えばフジッコ社製「フジフラボン P 1 0」（登録商標）等の市販品や、レッドクローブやアルファルファ等の植物に由来するイソフラボン誘導体が包含される。

- 5 本発明イソフラボン含有組成物においては、他方の必須成分として、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力（代謝活性）を有する微生物を用いる。該微生物

物には、より詳しくはバクテロイデス・オバタス

- （*Bacteroides ovatus*）、ストレプトコッカス・インターメディアス（*Streptococcus intermedius*）及びストレプトコッカス・コンステラータス（*Streptococcus constellatus*）に属するものが包含される。之等に属する特に好ましいものとしては、本発明者らがヒト糞便中より新たに単離同定した寄託菌、即ち、バクテロイデス

- 15 E-23-15（*Bacteroides* E-23-15, FERM BP-6435）、ストレプトコッカス E-23-17（*Streptococcus* E-23-17, FERM BP-6436）及びストレプトコッカス A6G-225（*Streptococcus* A6G-225, FERM BP-6437）を例示することができる。

- 20 以下、之等の微生物の菌学的性質につき詳述する。

（1）バクテロイデス E-23-15（*Bacteroides* E-23-15, FERM BP-6435）

I. 培地上での発育状態

本菌株は、E G (Eggerth-Gagnon)寒天培地、B L (Blood Liver)寒天培地もしくはG A M培地(Gifu Anaerobic Medium)を用いてスチールウール加嫌気ジャーにより、37℃、48時間、嫌気培養した際に、良好もしくは普通の生育を示す。その集落性状は、正円、凸円状に隆起し、表面、周縁とも平滑～やや粗ざうで、E G寒天培地上では灰白色、B L寒天培地上では灰褐色を呈する。菌形態は、グラム陰性の桿菌で、球桿菌、単桿菌、長桿菌等の多形性を示すが、単在性で連鎖は見られない。本菌株は芽胞を形成しない。

II. 生理学的性質

- (1)至適発育温度：37℃
- (2)至適発育pH：7.0
- 15 (3)ゼラチンの液化：+
- (4)可溶性澱粉の加水分解：+
- (5)エスクリンの加水分解：+
- (6)インドール産生：-
- (7)ウレアーゼ：-
- 20 (8)カタラーゼ：-
- (9)各炭素源の同化性：
L-アラビノース +

	D-キシロース	+
	D-グルコース	+
	シュクロース	+
	L-ラムノース	+
5	D-ラフィノース	+
	D-マンニット	+
	インドール	+
<hr/>		
	ラクトース	+
	マルトース	+
10	サリシン	+
	ゼラチン	+
	グリセリン	+
	D-セロビオース	+
	D-マンノース	+
15	D-メレチトース	+
	D-ソルビトール	+
	D-トレハロース	+

(10) ペプトン又はグルコース資化後の有機酸組成：

糖資化性用培地である P Y F (ペプトン・イーストエキストラクトフィールド) 培養液 (約 5 % ペプトン含有) 及び P Y F 培養液にグルコースを終濃度 0.5 % となるように添加したものを用いて、本菌株を嫌氣的条件下で、

37℃、72時間培養することによって得られた培養物中の有機酸をHPLC法によって測定した。結果（単位：mM）を次に示す。

	有機酸	P Y F 培養液	グルコース加 P Y F 培養液
5	マレイン酸	0. 0 2	1. 1 9
	コハク酸	0. 0 1	3. 2 0
	乳酸	0. 0 1	4. 9 4
	蟻酸	0. 0 3	0. 6 6
	酢酸	0. 2 9	2. 6 2
10	ピログルタミン酸	0. 0 1	n d
	プロピオン酸	n d	n d
	i - 酪酸	1. 7 1	0. 2 3
	n - 酪酸	0. 3 6	n d
	i - 吉草酸	n d	0. 1 9
15	<u>n - 吉草酸</u>	<u>n d</u>	<u>n d</u>

n d は、検出されずを示す。

以上、菌の形状、生化学的性質、糖資化性及び有機酸
 20 産生の各点から、本菌株は、グラム陰性桿菌であるバク
 テロイデス オバタスあるいはバクテロイデス ユニフ
 ォルミスに分類されるが、ラムノースに対する資化性を
 有することから、バクテロイデス オバタスに属すると

判断された。従って、本発明者は本菌株をバクテロイデ
ス E-23-15 (Bacteroides E-23-15)と命名し、
平成9年7月7日に、工業技術院生命工学工業技術研究
所(日本国茨城県つくば市東1丁目1番3号)に、微工
5 研菌寄第P-16312号として寄託した。尚、このも
のは、平成10年7月22日に、原寄託よりブダペスト
条約に基づく寄託に移管されており、その受託番号は、

FERM BP-6435である。

(2) ストレプトコッカス E-23-17

10 (Streptococcus E-23-17, FERM BP-6436)

I. 培地上での発育状態

本菌株は、EG寒天培地、BL寒天培地もしくは
GAM培地を用いてスチールウール加嫌気ジャーにより、
37℃、48時間、嫌気培養した際に、良好もしくは普
15 通の生育を示す。その集落性状は、正円、円錐～中心凸
状も隆起し、すりガラス状～顆粒状構造で、周縁平滑～
やや粗を示す。EG寒天培地上では透明～灰褐色を呈す
る。菌形態は、グラム陽性の球菌で、楕円形又は両端が
やや尖った形をとる。単在もしくは双球状で不規則にか
20 たまった集団を形成する。連鎖は見られない。芽胞は形
成しない。

II. 生理学的性質

(1)至適発育温度 : 37 °C

(2)至適発育 pH : 7.0

(3)ゼラチンの液化 : -

(4)可溶性澱粉の加水分解 : -

5 (5)エスクリンの加水分解 : +

(6)インドール産生 : -

(7)ウレアーゼ : -

(8)カタラーゼ : -

(9)各炭素源の同化性 :

10	L - アラビノース	+
	D - キシロース	-
	D - グルコース	+
	シュクロース	-
	L - ラムノース	+
15	D - ラフィノース	-
	D - マンニット	+
	インドール	-
	ラクトース	+
	マルトース	+
20	サリシン	+
	ゼラチン	-
	グリセリン	-

17

	D - セロビオース	+
	D - マンノース	+
	D - メレチトース	-
	D - ソルビトール	±
5	D - トレハロース	+

(10) ペプトン又はグルコース資化後の有機酸組成：

糖資化性用培地である P Y F (ペプトン・イーストエ

クストラクトフィールド) 培養液 (約 5 % ペプトン含有)
及び P Y F 培養液にグルコースを終濃度 0. 5 % となる
10 ように添加したものをを用いて、本菌株を嫌氣的条件下で、
3 7 °C、7 2 時間培養を行なうことによって得られた培
養物中の有機酸を H P L C 法によって測定した。結果
(単位 : m M) を次に示す。

15

20

	<u>有機酸</u>	<u>P Y F 培養液</u>	<u>グルコース加</u>	
			<u>P Y F 培養液</u>	
5	マレイン酸	0. 0 4		n d
	コハク酸	2. 3 7	0. 0 2	
	乳酸	0. 0 2		n d
	蟻酸	0. 0 3	0. 0 3	
	酢酸	3. 3 2	0. 0 7	
10	ピログルタミン酸	0. 0 3		n d
	プロピオン酸	3. 2 4		n d
	i - 酪酸	4. 1 7	1. 1 1	
	n - 酪酸			n d
	i - 吉草酸	4. 5 0		n d
	<u>n - 吉草酸</u>	<u>n d</u>		<u>n d</u>

n d は、検出されずを示す。

- 15 以上、菌の形状、生化学的性質、糖資化性及び有機酸
 産生の各点から、本菌株は、グラム陽性球菌であるルミ
 ノコッカス プロダクタスあるいはストレプトコッカス
 コンステラタスに分類されるが、ルミノコッカス プ
 ロダクタスの基準株とは、シュクロース、D - キシロー
 20 ス、D - ラフィノースの同化性の点で異なっている。従
 って、本発明者は本菌株をストレプトコッカス E -
 23 - 17 (Streptococcus E-23-17)と命名し、平成9

年 7 月 7 日に、工業技術院生命工学工業技術研究所（日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番 3 号）に、微工研菌寄第 P-16313 号として寄託した。尚、このものは、平成 10 年 7 月 22 日に、原寄託よりブダペスト条約に
5 基づく寄託に移管されており、その受託番号は、FERM BP-6436 である。

(3) ストレプトコッカス A6G-225

(*Streptococcus* A6G-225, FERM BP-6437)

I. 培地上での発育状態

- 10 本菌株は、EG 寒天培地、BL 寒天培地もしくは GAM 培地を用いてスチールウール加嫌気ジャーにより、37℃、48 時間、嫌気培養した際に、良好もしくは普通の生育を示す。その集落性状は、正円、円錐～中心凸状も隆起し、すりガラス状～顆粒状構造で、周縁平滑～
15 やや粗を示す。EG 寒天培地上では透明～灰白色を呈する。菌形態は、グラム陽性の球菌で、楕円形又は両端がやや尖った形をとる。単在もしくは双球状で不規則にかたまった集団を形成する。連鎖は見られない。芽胞は形成しない。

20 II. 生理学的性質

(1) 至適発育温度：37℃

(2) 至適発育 pH：7.0

- (3)ゼラチンの液化：－
- (4)可溶性澱粉の加水分解：－
- (5)エスクリンの加水分解：＋
- (6)インドール産生：－
- 5 (7)ウレアーゼ：－
- (8)カタラーゼ：－
- (9)各炭素源の同化性：
- | | | |
|----|----------|---|
| | L－アラビノース | － |
| | D－キシロース | － |
| 10 | D－グルコース | ＋ |
| | シュクロース | ＋ |
| | L－ラムノース | － |
| | D－ラフィノース | ＋ |
| | D－マンニット | － |
| 15 | インドール | － |
| | ラクトース | ＋ |
| | マルトース | ＋ |
| | サリシン | ＋ |
| | ゼラチン | － |
| 20 | グリセリン | － |
| | D－セロビオース | ＋ |
| | D－マンノース | ＋ |

D - メレチトース	-
D - ソルビトール	-
D - トレハロース	-

(10) ペプトン又はグルコース資化後の有機酸組成：

- 5 糖資化性用培地である P Y F (ペプトン・イーストエキストラクトフィールド) 培養液 (約 5 % ペプトン含有) 及び P Y F 培養液にグルコースを終濃度 0. 5 % となる
-
- 10 ように添加したものを用いて、本菌株を嫌氣的条件下で、37℃、72時間培養を行なうことによって得られた培養物中の有機酸を H P L C 法によって測定した。結果 (単位：m M) を次に示す。

	<u>有機酸</u>	<u>P Y F 培養液</u>	<u>グルコース加</u> <u>P Y F 培養液</u>
5	マレイン酸	n d	n d
	コハク酸	0. 2 1	0. 0 3
	乳酸	n d	3 5. 3 6
	蟻酸	0. 5 5	1. 6 6
	酢酸	1. 3 5	0. 5 4
10	ピログルタミン酸	n d	n d
	プロピオン酸	n d	n d
	i - 酪酸	2. 0 4	n d
	n - 酪酸	n d	n d
	i - 吉草酸	n d	n d
	<u>n - 吉草酸</u>	<u>n d</u>	<u>n d</u>

n d は、検出されずを示す。

- 15 以上、菌の形状、生化学的性質、糖資化性及び有機酸
 産生の各点から、本菌株は、グラム陽性球菌であるスト
 レプトコッカス インターメディアスに分類されるが、
 その基準株とは、L - ラムノース、D - トレハロースの
 同化性の点で異なっている。従って、本発明者は本菌株
 20 をストレプトコッカス A 6 G - 2 2 5

(Streptococcus A6G-225)と命名し、平成9年7月7日
 に、工業技術院生命工学工業技術研究所（日本国茨城県

つくば市東1丁目1番3号)に、微工研菌寄第P-
16314号として寄託した。尚、このものは、平成
10年7月22日に、原寄託よりブダペスト条約に基づ
く寄託に移管されており、その受託番号は、FERM BP-
5 6437である。

本発明者が独自に単離した上記3種の微生物は、いず
れも、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力
を有することをその最大の特徴としている。ここで、ダ
イゼインには、例えばダイジン等のイソフラボン配糖体
10 のアグリコンとしてのダイゼインも包含される。該ダイ
ジンは上記微生物により資化されて、ダイゼインが産生
され、更に該ダイゼインからエクオールが産生される。

従来、かかるエクオール産生能を有する微生物は報告
された例がない。従って、本発明はかかるエクオール産
15 生能を有する新しい微生物をも提供するものである。

本発明イソフラボン含有組成物の必須成分とする上記
微生物は、各微生物の生菌そのものであるのが一般的で
あるが、特にこれに限定されず、例えばその培養液、培
養物の粗精製品乃至精製品、それらの凍結乾燥品等であ
20 ってもよい。その配合量は微生物の種類等に応じて適宜
決定でき、特に限定されるものではない。例えば牛乳を
発酵させた場合のストレプトコッカス・インターメディ

アス菌の場合は、菌数が $10^8 \sim 10^9$ 個/ml前後となる量に調整されるのが好適である。該菌数の測定は、菌培養用の寒天培地に希釈した試料を塗布して37℃下、嫌気培養を行ない、生育したコロニー数を計測することにより算出したものである。他の菌株の場合も上記菌数を目安として適宜決定できる。

本発明イソフラボン含有組成物中には、更に好ましくは、上記微生物の維持、増殖に特に適した栄養成分を含有させることができる。該栄養成分としては、例えば乳果オリゴ糖、大豆オリゴ糖、ラクチュロース、ラクチトール、フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖等の各種オリゴ糖を例示できる。これらの配合量は、特に限定されるものではないが、通常本発明組成物中に1～3重量%程度となる量範囲から選ばれるのが好ましい。

本発明組成物は、一般には上記必須成分及びその他の成分の所定量を混合して、摂取乃至投与に適した適当な食品乃至医薬品形態、例えば食品形態の場合は、飲料、乳製品、発酵乳、バー、顆粒、粉末、カプセル、錠剤等の形態、医薬品の場合は、水溶液、乳化液、顆粒、粉末、カプセル、錠剤等の形態にそれぞれ調製される。これら各形態への調製は、常法に従うことができる。またこれら各形態への調製に当たって用いられる担体は、可食性

担体乃至製剤学的に許容される賦形剤や希釈剤等の担体のいずれでもよい。特に食品形態の場合は、口当たりのよい味覚改善効果のある担体が好ましい。

特に使用の好ましい担体としては、例えばマスキング
5 剤であるトレハロース（林原社製）、サイクロデキストリン、ベネコートBMI（花王社製）等を例示できる。

また、本発明組成物における上記ダイゼイン含有物、

特定微生物及び必要に応じて添加配合される微生物の維持、増殖成分の混合比率は、特に限定的ではないが、
10 一般に、本発明組成物100gに対して、ダイゼイン含有物ではダイゼインが約10～50mgの範囲内とするのが好ましい。また、微生物は、同組成物に対して $10^9 \sim 10^{10}$ 個（生菌数として）、オリゴ糖は同組成物に対して約1～5gの範囲内であるのが望ましい。

15 尚、上記の通り、本発明イソフラボン含有組成物は、微生物（主に生菌）を含有させるものであるため、該組成物の製品化に当たっては、加熱、加圧等の条件の採用はあまり好ましくない。従って、本発明組成物を例えば
20 ば、顆粒、粉末、錠剤等の製品形態に調整するに当たっては、微生物を凍結乾燥菌体として直接処方するか、凍結乾燥菌体を適当なコーティング剤で加工して用いるのが好ましい。

本発明組成物には、必要に応じて、更に各種の栄養補給効果を奏し得る他の食素材や医薬品の調製に当たって慣用される各種の添加剤等を適宜添加配合することができる。該食素材としては、例えばカルシウム、ビタミン

5 B、ビタミンD、ビタミンC、ビタミンE、ビタミンK（特に納豆菌由来のMK-7 (menaquinone-7)）等を例示できる。他の添加できる素材の例としては、例えば亜鉛、セレン等を例示できる。

かくして得られる本発明イソフラボン含有組成物は、

10 中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる、例えば骨粗鬆症、更年期障害等の症状の予防及び処置に有用である。かかる、予防及び処置は、これを要求される中高年女性に、上記本発明組成物の有効量を投与するか又は摂取させることにより実施される。該有効量は、本発

15 明組成物の投与によって、中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる、例えば骨粗鬆症、更年期障害等の症状の予防及び処置が可能である限り、特に限定されるものではないが、一般には、ダイゼインが約10～50 mg / 日、ゲニステインが約10 mg / 日以上摂取され

20 る量とするのが好ましい。

次いで、本発明エクオール含有組成物につき以下に詳述する。

本発明エクオール含有組成物は、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物をダイゼイン含有物に作用させて得られるエクオールを有効成分として含有することを必須とする。

- 5 ここで微生物としては、前述した本発明イソフラボン含有組成物において必須成分とするそれと同一のものを挙げる事ができる。また、該微生物を作用させるダイゼイン含有物も、前述した本発明イソフラボン含有組成物における場合と同様に、単離精製されたダイゼイン及びこれを
10 含む食素材、その加工品もしくは発酵調製物、例えば大豆イソフラボン、葛、レッドクローブ、アルファルファ等に由来するイソフラボンやこれらを含む製品、例えば豆腐、豆乳、煮大豆、納豆、大豆胚軸抽出物等である
15 ことができる。
- 15 本発明エクオール含有組成物は、その有効成分とするエクオールが上記の通り天然物であることから、安全性に優れており、また微生物を用いて調製されたものである
20 ことに基づいて、その製造工程に由来する化学薬品等の混入のおそれもなく、更に高収率で且つ低生産コストである利点がある。

本発明エクオール含有組成物は、上記ダイゼイン含有物、好ましくは大豆イソフラボン又はこれを含有する食

素材を基質として利用して、一般的な発酵方法に従い、上記微生物を培養することによって調製できる。

この方法は、より詳しくは、例えば基質を溶液状態にして滅菌した後、これに所定の微生物を添加して、37
5 °C下に、嫌気状態あるいは好氣的静置状態で、48～
96時間程度発酵（必要に応じてpH調節剤、還元物質（例えば酵母エキス、ビタミンK₁等）を添加できる）させることにより実施できる。

上記培養は、例えばストレプトコッカス インターメ
10 ディアス菌の場合は、より好ましくは次の如くして実施
できる。即ち、嫌気性菌増殖用の変法GAM培地
(Modified Gifu Anaerobic Medium)に、基質としてダイ
ゼインを0.01～0.5mg/mlの範囲で溶解する。
予め、変法GAM培地で14時間程度前培養して増殖さ
15 せた微生物の培養液を、ダイゼインを溶解させた変法
GAM培地に接種する。接種量は培地の1/100容量
とする。好氣的条件下に、37°Cで、48～96時間静
置培養する。

本発明は、かかる微生物を利用したエクオールの製造
20 方法をも提供するものである。

上記発酵系内には、更に好ましくは上記微生物の維持、増殖に特に適した栄養成分を含有させることができる。

該栄養成分としては、例えば乳果オリゴ糖、大豆オリゴ糖、ラクチュロース、ラクチトール、フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖等のオリゴ糖を例示できる。これらの配合量は、特に限定されるものではないが、通常本発明

5 組成物中に1～3重量%程度配合される量範囲から選ばれるのが好ましい。

かくして、所望のエクオール含有培養物が得られる。

該培養物からのエクオールの単離精製は、常法に従うことができる。例えば得られた発酵培養物をイオン交換

10 樹脂（DIAION HP20、三菱化成社製）に吸着させた後、メタノールで溶出させ、乾固して、エクオール粗精製物とすることができる。

本発明のエクオール含有組成物は、上記の如くして得られるエクオール含有培養物又は単離されたエクオール

15 を利用して、これを更に必要に応じて適当な他の食素材等を適宜配合して、適当な食品形態乃至医薬品形態に調製することができる。

上記食品形態としては、例えば飲料、乳製品、発酵乳、バー、顆粒、粉末、カプセル、錠剤等を例示できる。また、医薬品形態としては、例えば水溶液、乳化液、顆粒、

20 粉末、カプセル、錠剤等の形態を例示できる。これら各形態への調製は、常法に従うことができる。またこれら

各形態への調製に当たって用いられる担体は、可食性担体乃至製剤学的に許容される賦形剤や希釈剤等の担体のいずれでもよい。特に食品形態の場合は、口当たりのよい味覚改善効果のある担体が好ましい。

- 5 かくして得られる本発明組成物中のエクオール量は、調製される食品形態及び医薬品形態に応じて決定され、特に限定されるものではないが、通常組成物全 100 g 中にエクオールが 10 ~ 50 mg 程度含有される量の範囲とするのが好ましい。
- 10 本発明組成物の摂取量は、特に限定されるものではないが、摂取した場合に尿中のエクオール排泄量が 5 μ M / 日以上となる量を目安とすることができる。
- 本発明エクオール含有組成物は、中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる、例えば鬆症、更年期障害
- 15 等の症状の予防及び処置に有用である。

発明を実施するための最良の形態

- 以下、本発明を更に詳しく説明するため本発明イソフラボン含有組成物の調製例、エクオール含有組成物の調製例、エクオールの製造例を実施例として挙げるが、本
- 20 発明はこれに限定されるものではない。

実施例 1 飲料の調製

 下記処方各成分を秤量混合して、飲料形態の本発明

組成物を調製した。

	水溶性大豆蛋白の発酵培養物	1 0 m l
	乳果オリゴ糖（5 5 % 含量）	1 0 . 0 g
	ビタミン・ミネラル	適量
5	香料	適量
	水	適量
	全量	1 5 0 m l

上記水溶性大豆蛋白の発酵培養物は、水溶性大豆蛋白
2 . 2 g を水 1 0 m l に溶解したものに、ストレプトコ
10 ッカス A 6 G - 2 2 5 (F E R M B P - 6 4 3 7)
を 10^8 個加えて、3 7 °C で 4 8 時間発酵させたものであ
る。

実施例 2 発酵乳の調製

下記処方各成分を秤量混合して、発酵乳形態の本発
15 明イソフラボン含有組成物を調製した。

	水溶性大豆蛋白	2 . 2 g
	乳果オリゴ糖（5 5 % 含量）	1 0 . 0 g
	ストレプトコッカス A 6 G - 2 2 5 発酵乳	1 0 0 m l
	ビタミン・ミネラル	適量
20	香料	適量
	水	適量
	全量	5 0 m l

尚、水溶性大豆蛋白中には、ダイゼインが3～4%程度（高速液体クロマトグラフィー分析による、以下同じ）含まれる。また、ストレプトコッカスA6G-225発酵乳は、牛乳1リットルにストレプトコッカスA6G-225（FERM BP-6437）を 10^8 個を加え、37℃で24時間発酵させたものである。

実施例3 発酵豆乳凍結乾燥粉末の調製

ストレプトコッカスA6G-225（FERM BP-6437）約 10^7 個/mlの1mlを用いて、豆乳100gを37℃で24時間乳酸発酵させて、エクオールを生成させた。これを凍結乾燥して粉末とした。粉末中のエクオール含量は、0.1～0.3重量%であった。

上記粉末を用いて、下記処方各成分を秤量混合して、発酵豆乳凍結乾燥粉末形態の本発明組成物を調製した。

15	発酵豆乳凍結乾燥粉末	2.2 g
	賦形剤	適量
	ビタミン・ミネラル	適量
	香料	適量
	全量	2.0 g

20 尚、賦形剤としては、コーンスターチ17gを用いた。

実施例4 粉末の調製

下記処方各成分を秤量混合して、粉末形態の本発明

組成物を調製した。

	粗精製大豆イソフラボン末	4. 1 g
	乳果オリゴ糖（55%含量）	10. 0 g
	ストレプトコッカスE-23-17凍結乾燥粉末	
5		1. 0 g
	ビタミン・ミネラル	適量
	香料	適量

	全量	20 g
--	----	------

- 尚、ストレプトコッカスE-23-17凍結乾燥粉末
- 10 は、ストレプトコッカスE-23-17（FERM
BP-6436）を増殖可能な適当な液体培地（GAM
ブロス）で培養（37℃、24～48時間）した後、集
菌したものを凍結乾燥することによって得られたもので
あり、その菌体含量は $10^9 \sim 10^{10}$ 個/gである。

15 実施例5 顆粒の調製

下記処方各成分を秤量混合して、顆粒形態の本発明
組成物を調製した。

	粗精製大豆イソフラボン末	4. 1 g
	乳果オリゴ糖（55%含量）	10. 0 g
20	ストレプトコッカスE-23-17凍結乾燥粉末	
		1. 0 g
	ソルビトール	適量

ビタミン・ミネラル	適量
香料	適量
全量	20 g

尚、ストレプトコッカス E-23-17 凍結乾燥粉末
5 としては、実施例 4 と同一のものを用了。

実施例 6 (微生物によるエクオール製造)

基質として水溶性大豆イソフラボン素材 (フジッコ社
製「フジフラボン P10」) を用いて、その 2.2% 濃
度水溶液中に、ストレプトコッカス A6G-225
10 (FERM BP-6437) の $10^7 \sim 10^9$ 菌数を
嫌気性菌培養用の GAM 培地に懸濁させた液 1 ml を加
え、好氣的、37℃、静置条件下で 96 時間、培養し、
培養液中に産生するエクオール量を HPLC 法により測
定した。尚、上記水溶液のダイジン濃度は 1.083
15 mg/ml であり、ダイゼイン濃度は 0.014 mg/
ml であった。

その結果、水溶性大豆イソフラボン素材中には、エク
オールは検出されなかったのに対して、96 時間培養後
の培養液中のエクオール含量は、 613.0 ± 8.7
20 $\mu\text{g/ml}$ (5 回の平均値 \pm 標準偏差) であり、ダイジ
ン及びダイゼインは検出されなかった。

尚、上記において水溶性大豆イソフラボンに代えてダ

イゼイン（フナコシ社製、純度99%以上）0.01
 mg/mlを含む基質液（ダイゼイン5mgを特級メタ
 ノール2mlに懸濁させ、これをBHI（ブレインハー
 トインフュージョン）培地で50mlに希釈したもの）
 5 を用いて、同様にしてエクオールを製造した結果、96
 時間後の培養液中のエクオール含量は、 $17.9 \pm$
 $1.4 \mu\text{g/ml}$ （5回の平均値±標準偏差）であった。

このことから、本発明微生物の利用によれば、ダイゼ
 インからエクオールを効率よく製造できることが明らか
 10 である。

実施例7 飲料の調製

エクオール含有発酵培養物	1.55g
ブドウ糖	5.00g
クエン酸	0.5g
15 ビタミン・ミネラル	適量
香料	適量
水	適量
全量	200ml

実施例6と同様にして、水溶性大豆イソフラボン素材
 20 （フジフラボンP10、フジッコ社製）の2.2%濃度
 水溶液に、ストレプトコッカス A6G-225
 （FERM BP-6437）の $10^7 \sim 10^9$ 菌数を嫌

気性菌培養用の G A M 培地に懸濁させた液 1 m l を加え、好氣的、37℃、静置条件下で96時間培養して得られたエクオール含有発酵培養物を用いて、上記処方に従い、飲料形態本発明組成物を調製した。

5 実施例 8 バーの調製

エクオール含有発酵培養物	1. 55 g
バター	20. 0 g
砂糖	20. 0 g
塩	少々
10 卵	1 / 2 個
小麦粉	80. 0 g
ビタミン・ミネラル	適量
香料	適量
牛乳	30. 0 g

- 15 実施例 7 に記載のエクオール含有発酵培養物を用いて、上記処方に従い、生地を調製し、これを適当なバー状形態に賦形後、170℃のオーブンで15分間焼いて、菓子バーを調製した。

実施例 9 ゼリーの調製

20 エクオール含有発酵培養物	1. 55 g
果汁	50. 0 g
砂糖	50. 0 g

寒天	2. 5 g
ビタミン・ミネラル	適量
香料	適量

実施例 7 に記載のエクオール含有発酵培養物を用いて、
5 上記処方に従い、各成分を混合しながら、90℃まで加熱して、寒天を溶かし、全体を適当な容器に流し込んだ後、5～10℃に冷却して凝固させて、ゼリー状形態の本発明組成物を調製した。

産業上の利用可能性

10 本発明組成物は、食品形態乃至医薬品形態でこれを摂取乃至投与することによって、中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる各種症状の予防乃至緩和に有用である。

15

20

請 求 の 範 囲

- 1 ダイゼイン含有物と、ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物とを必須成分として含有することを特徴とする組成物。
- 5 2 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物が、バクテロイデス・オバタス、ストレプトコッカス・インターメディアス及びストレプトコッカス・コンステラータスからなる群から選ばれる少なくとも1種である請求項1に記載の組成物。
- 10 3 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物が、FERM BP-6435号として寄託されたバクテロイデス E-23-15、
FERM BP-6436号として寄託されたストレプトコッカス E-23-17及びFERM BP-
15 6437号として寄託されたストレプトコッカス
A6G-225からなる群から選ばれる少なくとも1種である請求項1に記載の組成物。
- 4 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物の維持、増殖成分を更に含有する請求項
20 1に記載の組成物。
- 5 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力を有する微生物の維持、増殖成分が、乳果オリゴ糖、大

豆オリゴ糖、ラクチュロース、ラクチトール及びフラクトオリゴ糖からなる群から選択される少なくとも1種である請求項4に記載の組成物。

6 ダイゼイン含有物が、更にゲニステイン、ダイジン
5 及びゲニスチンを含むものである請求項1に記載の組成物。

7 ダイゼイン含有物が大豆イソフラボンである請求項
1 に記載の組成物。

8 中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる症
10 状の予防及び処置を行なうための、請求項1に記載の組成物。

9 食品形態である請求項8に記載の組成物。

10 食品形態が飲料、乳製品、発酵乳、バー、顆粒、
粉末、カプセル及び錠剤形態から選択されるものである
15 請求項9に記載の組成物。

11 医薬品形態である請求項8に記載の組成物。

12 医薬品形態が水溶液、乳化液、顆粒、粉末、カプセル及び錠剤形態から選択されるものである請求項
11 に記載の組成物。

20 13 中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる
症状の予防及び処置を行なう方法であって、請求項1
に記載の組成物の有効量を上記予防及び処置を要求さ

れる中高年女性に投与方法。

- 1 4 中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる
症状の予防及び処置に有効な組成物の製造のための、
ダイゼイン含有物及びダイゼインを資化してエクオール
5 ルを産生する能力を有する微生物の使用。
- 1 5 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力
を有する微生物をダイゼイン含有物に作用させて得ら
れるエクオールを必須成分として含有することを特徴
とする組成物。
- 10 1 6 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力
を有する微生物が、バクテロイデス・オバタス、スト
レプトコッカス・インターメディアス及びストレプト
コッカス・コンステラータスからなる群から選ばれる
少なくとも1種である請求項15に記載の組成物。
- 15 1 7 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力
を有する微生物が、FERM BP-6435号とし
て寄託されたバクテロイデス E-23-15、
FERM BP-6436号として寄託されたストレ
プトコッカス E-23-17及びFERM BP-
20 6437号として寄託されたストレプトコッカス
A6G-225からなる群から選ばれる少なくとも1
種である請求項15に記載の組成物。

- 1 8 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力
 を有する微生物の維持、増殖成分を更に含有する請求
 項 1 5 に記載の組成物。
- 1 9 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力
5 を有する微生物の維持、増殖成分が、乳果オリゴ糖、
 大豆オリゴ糖、ラクチュロース、ラクチトール及びフ
 ラクトオリゴ糖からなる群から選択される少なくとも
 1 種である請求項 1 5 に記載の組成物。
- 2 0 ダイゼイン含有物が、更にゲニステイン、ダイジ
10 ン及びゲニスチンを含むものである請求項 1 5 に記載
 の組成物。
- 2 1 ダイゼイン含有物が大豆イソフラボンである請求
 項 1 5 に記載の組成物。
- 2 2 中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる
15 症状の予防及び処置を行なうための、請求項 1 5 に記
 載の組成物。
- 2 3 食品形態である請求項 2 2 に記載の組成物。
- 2 4 食品形態が飲料、乳製品、発酵乳、バー、顆粒、
 粉末、カプセル及び錠剤形態から選択されるものであ
20 る請求項 2 3 に記載の組成物。
- 2 5 医薬品形態である請求項 2 2 に記載の組成物。
- 2 6 医薬品形態が水溶液、乳化液、顆粒、粉末、カプ

セル及び錠剤形態から選択されるものである請求項
25に記載の組成物。

- 27 中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる
症状の予防及び処置を行なう方法であって、請求項
5 15に記載の組成物の有効量を上記予防及び処置を要
求される中高年女性に投与する方法。
- 28 中高年女性における不定愁訴乃至閉経に伴われる
症状の予防及び処置に有効な組成物の製造のための、
ダイゼイン含有物及びダイゼインを資化してエクオール
10 を産生する能力を有する微生物の使用。
- 29 ダイゼインに、ダイゼインを資化してエクオール
を産生する能力を有する微生物を作用させることを特
徴とするエクオールの製造方法。
- 30 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力
15 を有する微生物が、バクテロイデス・オバタス、スト
レプトコッカス・インターメディアス及びストレプト
コッカス・コンステラータスからなる群から選ばれる
少なくとも1種である請求項29に記載の方法。
- 31 ダイゼインを資化してエクオールを産生する能力
20 を有する微生物が、FERM BP-6435号とし
て寄託されたバクテロイデス E-23-15、
FERM BP-6436号として寄託されたストレ

プトコッカス E-23-17 及び FERM BP-6437 号として寄託されたストレプトコッカス A6G-225 からなる群から選ばれるものである請求項 29 に記載の方法。

- 5 32 FERM BP-6435 号として寄託されたバクテロイデス E-23-15、FERM BP-6436 号として寄託されたストレプトコッカス E-23-17 及び FERM BP-6437 号として寄託されたストレプトコッカス A6G-225 から
- 10 選択される微生物。



1

2

3

4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03460

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K35/74, 35/78, A23L1/30, C12N1/20 // A61K31/35, C07D311/36

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K35/74, 35/78, 31/35, A23L1/30, C12N1/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 59-199630, A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 12 November, 1984 (12. 11. 84) & DE, 3415394, A	1-12, 14-26, 28-32
A	JP, 5-176711, A (Kyodo Nyugyo K.K.), 20 July, 1993 (20. 07. 93) (Family: none)	1-12, 14-26, 28-32
A	JP, 4-356479, A (Kuraray Co., Ltd.), 10 December, 1992 (10. 12. 92) (Family: none)	1-12, 14-26, 28-32
A	JP, 9-157268, A (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 17 June, 1997 (17. 06. 97) (Family: none)	1-12, 14-26, 28-32

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
16 November, 1998 (16. 11. 98)Date of mailing of the international search report
24 November, 1998 (24. 11. 98)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03460

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13, 27
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
They pertain to methods for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A61K35/74, 35/78, A23L1/30, C12N1/20//A61K31/35,
C07D311/36

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A61K35/74, 35/78, 31/35, A23L1/30, C12N1/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 59-199630, A (武田薬品工業株式会社) 12. 1 1月. 1984 (12. 11. 84) & DE, 3415394, A	1-12, 14-26, 28-32
A	J P, 5-176711, A (協同乳業株式会社) 20. 7月. 1 993 (20. 07. 93) (ファミリーなし)	1-12, 14-26, 28-32
A	J P, 4-356479, A (株式会社クラレ) 10. 12月. 1 992 (10. 12. 92) (ファミリーなし)	1-12, 14-26, 28-32
A	J P, 9-157268, A (日本化薬株式会社) 17. 6月. 1 997 (17. 06. 97) (ファミリーなし)	1-12, 14-26, 28-32

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 11. 98

国際調査報告の発送日

24.11.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 淳子



4C 8115

電話番号 03-3581-1101 内線 3454

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの1の続き）

法第8条第3項（PCT 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 13, 27 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
人の身体の治療による処置方法である。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって P C T 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの2の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとその国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

PCT



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)

[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 P98-30	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/03460	国際出願日 (日.月.年) 04.08.98	優先日 (日.月.年) 08.08.97
出願人(氏名又は名称) 大塚製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

- ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。
- ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。
- ☐ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。
 - ☐ この国際出願と共に提出されたもの
 - ☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの
 - ☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない
 - ☐ この国際調査機関が書換えたもの
- 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

- 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。
- 要約書とともに公表される図は、
 第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの1の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 13, 27 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
人の身体の治療による処置方法である。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって P C T 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの2の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A61K35/74, 35/78, A23L1/30, C12N1/20//A61K31/35, C07D311/36

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A61K35/74, 35/78, 31/35, A23L1/30, C12N1/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A ✓	JP, 59-199630, A (武田薬品工業株式会社) 12. 1 1月. 1984 (12. 11. 84) & DE, 3415394, A	1-12, 14-26, 28-32
A ✓	JP, 5-176711, A (協同乳業株式会社) 20. 7月. 1 993 (20. 07. 93) (ファミリーなし)	1-12, 14-26, 28-32
A ✓	JP, 4-356479, A (株式会社クラレ) 10. 12月. 1 992 (10. 12. 92) (ファミリーなし)	1-12, 14-26, 28-32
A ✓	JP, 9-157268, A (日本化薬株式会社) 17. 6月. 1 997 (17. 06. 97) (ファミリーなし)	1-12, 14-26, 28-32

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 11. 98

国際調査報告の発送日

24.11.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

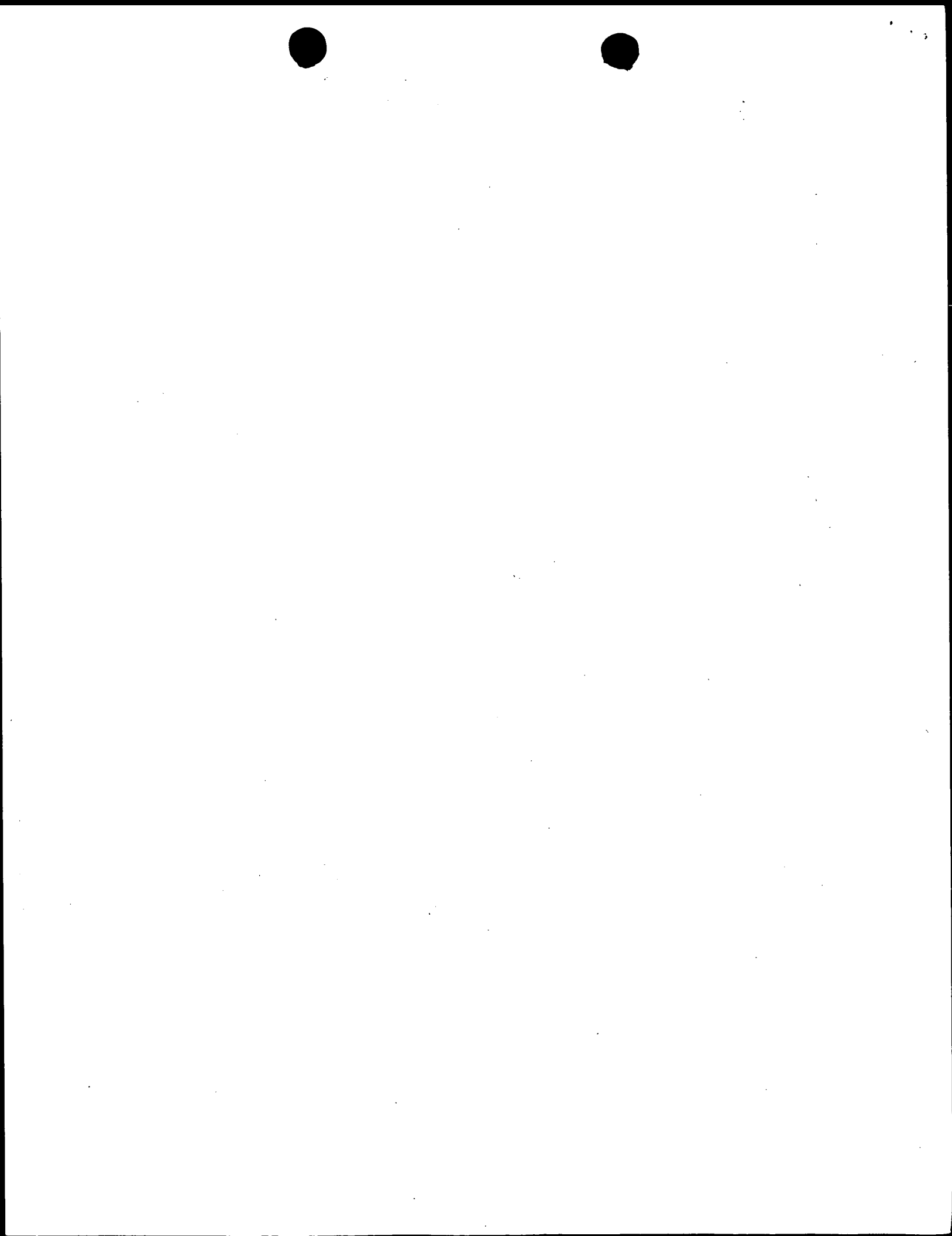
内田 淳子



4C

8115

電話番号 03-3581-1101 内線 3454





PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
 (PCT18条、PCT規則43、44)

出願人又は代理人 の書類記号 998240	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/03483	国際出願日 (日.月.年) 05.08.98	優先日 (日.月.年) 29.06.98
出願人(氏名又は名称) スーガン株式会社		

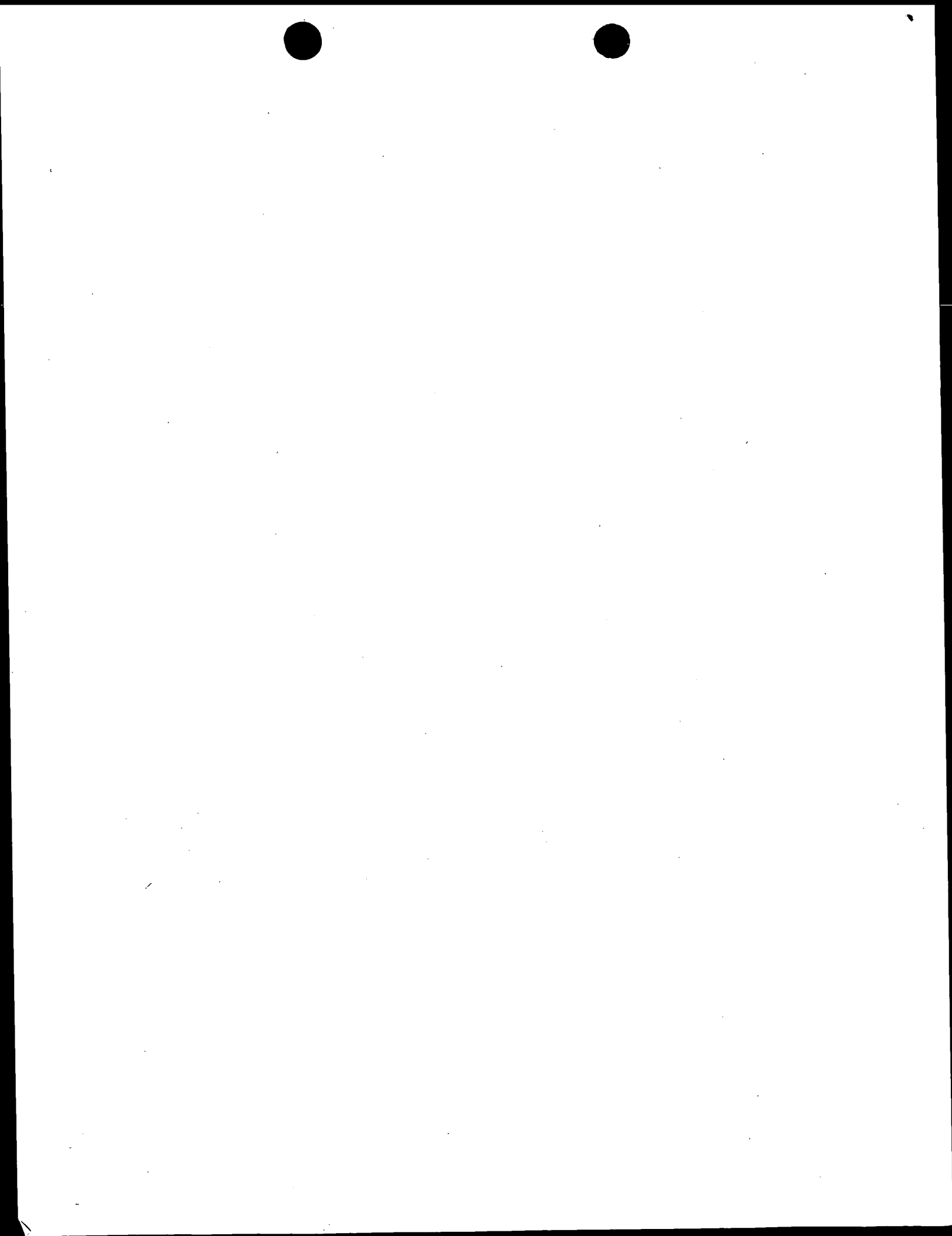
国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
 この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。
2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。
3. ☐ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。
 - ☐ この国際出願と共に提出されたもの
 - ☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの
 - ☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない
 - ☐ この国際調査機関が書換えたもの
4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。
6. 要約書とともに公表される図は、
 第 2 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。 ☐ なし
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. cl.⁶ F17D 1/08 F16K 5/04 A61M39/22

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. cl.⁶ F17D 1/08 F16K 5/04 F16K11/00-11/24
A61M39/00-39/28 A61B 1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1998
 日本国公開実用新案公報 1971-1998
 日本国登録実用新案公報 1994-1998

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 08-308792, A, 旭光学工業株式会社、26.11月.1996(26.11.96)、第7図、及び、第4頁左欄第44行目～右欄第6行目 (ファミリーなし)	1～3
Y	J P, 63-246133, A, 旭光学工業株式会社、13.10月.1988(13.10.88)、第1図、第2図、第3図、及び、第3頁左上欄第6行目～右上欄第11行目 (ファミリーなし)	1～3
X	日本国実用新案登録出願61-37077号 (日本国実用新案登録出願公開62-149680号) の願書に添付した明細書及び図面の内容を撮影したマイクロフィルム、日産自動車株式会社、22.9月.1987(22.09.87)、第1図、第2図、及び、第7頁第7行目～第	4, 5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11.11.98

国際調査報告の発送日

24.11.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
 郵便番号100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

渡辺 豊 英

3E 9726

電話番号 03-3581-1101 内線 3346

